

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Departamento de Anatomía**



**TESIS DOCTORAL**

**Análisis experimental de la influencia del factor  
hemodinámico en la septación cardíaca, supresión del flujo a  
través de los vasos vitelinos**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**María del Rosario Benítez Rubio**

**Madrid, 2015**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Medicina

Departamento de Anatomía

TP  
1988  
080



x-53-117380-0

**ANALISIS EXPERIMENTAL DE LA INFLUENCIA  
DEL FACTOR HEMODINAMICO EN LA  
SEPTACION CARDIACA: SUPRESION DEL  
FLUJO A TRAVES DE LOS VASOS VITELINOS**

María del Rosario Benítez Rubio

Madrid, 1988



BIBLIOTECA

**Colección Tesis Doctorales. N.º 80/88**

© **María del Rosario Benítez Rubio**

**Edita e imprime la Editorial de la Universidad  
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía  
Noviciado, 2 - 28015 Madrid  
Madrid, 1988  
Ricoh 3700  
Depósito Legal: M-3808-1988**

AUTOR: MARIA DEL ROSARIO BENITEZ RUBIO

TITULO: ANALISIS EXPERIMENTAL DE LA INFLUENCIA DEL  
FACTOR HEMODINAMICO EN LA SEPTACION CARDIACA:  
SUPRESION DEL FLUJO A TRAVES DE LOS VASOS  
VITELINOS.

DIRECTOR: PROF. DR. A. J. PUERTA FONOLLA

DEPARTAMENTO DE ANATOMIA  
FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE  
MADRID, 1.986





## DEDICATORIA



A mi marido y a mi hijo Miguel

A mis padres





## INDICE



I N D I C E

	Págs.
- AGRADECIMIENTOS.....	III
- INTRODUCCION.....	1
- RECUERDO HISTORICO.....	4
- ASPECTO DESCRIPTIVO DE LA EMBRIOGENESIS CAR- DIACA EN EL EMBRION HUMANO.....	11
- ASPECTO DESCRIPTIVO DE LA EMBRIOGENESIS CAR- DIACA EN EL EMBRION DE POLLO.....	31
- ASPECTOS ETIOPATOGENICOS DE LAS MALFORMACIO- NES CARDIACAS EN EL HOMBRE.....	60
- INFLUENCIA DEL FACTOR HEMODINAMICO EN LA SEPTACION CARDIACA.....	93
- JUSTIFICACION.....	127
- MATERIAL Y METODOS.....	130
- RESULTADOS.....	139
- ESTUDIO ESTADISTICO.....	141
- ESTUDIO MORFOLOGICO.....	187



## II

	Págs.
- DISCUSION.....	342
- ESTUDIO ESTADISTICO.....	344
- ESTUDIO MORFOLOGICO.....	359
 - CONCLUSIONES.....	 416
 - APENDICE.....	 428
- PROTOCOLO DE LAS INTERVENCIONES.....	431
 - BIBLIOGRAFIA.....	 468

## AGRADECIMIENTOS



#### IV

Cuando hace cinco años los profesores Orts-Llorca y Puerta Fonolla me propusieron la puesta en marcha de un proyecto de investigación destinado al análisis de la influencia del factor hemodinámico sobre los procesos de septación cardíaca, creí que las dificultades derivadas de un trabajo tan ambicioso serían excesivas para mí. Poco a poco se fue convirtiendo en una realidad debido al apoyo constante de su Director, el Prof. Puerta Fonollá que jamás ha regateado en tiempo y ayuda, animándome en los momentos difíciles. A él le debo todos los conocimientos y formación en el campo de la Embriología, incluyéndome dentro del equipo que dirige sobre Morfogénesis Cardíaca y que ha recibido para la realización de un proyecto sobre Influencia del factor hemodinámico en la septación cardíaca una Beca de la Comisión Asesora Científica y Técnica, del cual esta Tesis forma parte.

El Prof. Orts-Llorca ha mantenido un vivo interés desde el comienzo de esta Tesis y sus opiniones me han resultado siempre de gran valor.

Mi agradecimiento al Prof. Jiménez Collado por las facilidades y medios que me ha brindado.

Quisiera agradecer muy especialmente la ayuda que me ha ofrecido mi marido, Miguel Angel Amorós Pina, en cada una de las fases del trabajo y, sobre todo, en los aspectos relacionados con el procesamiento informático de los datos y

confección final de la Tesis.

Otra de las personas fundamentales en el desarrollo de este trabajo ha sido Carmen Benito que tanto tiempo y esfuerzo ha dedicado a las preparaciones histológicas.

Al Prof. Pablo Gil-Loyzaga por sus aportaciones en la realización del estudio estadístico.

Quisiera agradecer también a Jesús Sánchez su gran trabajo en las preparaciones fotográficas.

Hago extensivo mi agradecimiento a una serie de personas que han colaborado en diferentes aspectos de este trabajo: Prof. Ángel Peña, Manuel Riaño, Milagros del Río, Juan Carlos Prados, Julia Pérez de Miguel sanz y Alicia Cerro.

No quisiera olvidar el apoyo personal que me han ofrecido constantemente Consuelo Fina y Emilia Langa.

Un agradecimiento especial al Rectorado de la Universidad Complutense de Madrid, organismo del que he recibido una Beca de Formación de Personal Investigador por la cual ha sido posible llevar a cabo la realización de este trabajo.

Finalmente quisiera agradecer a los animales de experimentación que nos permiten conocer nuevos aspectos de la etiología y patogenia de muchas enfermedades que afectan al hombre.

## INTRODUCCION



## INTRODUCCION

- RECUERDO HISTORICO
- ASPECTO DESCRIPTIVO DE LA EMBRIOGENESIS CARDIACA  
EN EL EMBRION HUMANO
- ASPECTO DESCRIPTIVO DE LA EMBRIOGENESIS CARDIACA  
EN EL EMBRION DE POLLO
- ASPECTOS ETIOPATOGENICOS DE LAS MAFORMACIONES  
CARDIACAS EN EL HOMBRE
- INFLUENCIA DEL FACTOR HEMODINAMICO EN LA SEPTACION  
CARDIACA
- JUSTIFICACION





RECUERDO HISTORICO

### RECUERDO HISTORICO.

El corazón ha sido objeto de estudio para los investigadores de forma constante a través del tiempo: el conocimiento de su desarrollo, estructura y fisiología ha preocupado permanentemente al hombre. De igual forma, la génesis de las malformaciones ha motivado innumerables trabajos dado que constituye, además, el grupo de malformaciones congénitas más frecuentes en la especie humana.

Si quisiéramos remontarnos históricamente a los primeros autores llegaríamos hasta **ARISTOTELES** pero no es hasta 1.866 en que **HIS** presentó de forma ordenada la división del corazón en los estadios jóvenes. Dividió el tubo cardíaco primitivo en tres partes principales: bulbo, ventrículo y aurícula.

Los estudios de **HIS** se hicieron mediante disección de embriones y realizó a partir de ellos unos modelos en cera a gran aumento, tanto de la morfología externa como de la interna. No empleó ningún método de reconstrucción, sino que realizó el modelado de los ejemplares disecados que resultaban aceptables en su configuración externa. Estos modelos fueron comercializados por **ZIEGLER** (Berlin) y se encuentran en numerosos laboratorios de embriología como piezas de museo.

**BORN** (1.888-89) realiza una interpretación más metódica en su estudio de una serie de embriones de conejo y de dos

corazones humanos de época fetal. En este trabajo desarrolla el método de reconstrucción tridimensional en cera que lleva su nombre.

HOCHSTETTER (1.898) señala que los cojinetes atrioventriculares fusionados forman la porción superior y posterior de la pars membranacea en la parte que separa el vestibulo aórtico de la aurícula derecha. TANDLER (1.913) se basó en los trabajos de HOCHSTETTER cuando escribe Bardeleben's Handbuch Der Anatomie des Menschen con las figuras correspondientes a embriones humanos de 5.2 mm, 6.5 mm, 9 mm y 14 mm, reconstruidos mediante el método de BORN. Este autor pensaba que del ventrículo común surgían los dos ventrículos y que el tabique interventricular formado entre ambos dejaba un foramen interventricular que se cerraría por la participación del septum bulbar proximal dirigiéndose hacia el septum interventricular y la prolongación derecha de los cojinetes endocárdicos ya unidos.

MALL, al mismo tiempo que TANDLER (1912) reconstruyó y publicó el corazón de un embrión de 11 mm para estudiar la arquitectura muscular de los ventrículos.

KEITH (1909) difundió la idea de la reabsorción del espolón bulboventricular y concluye que en el corazón humano el bulbus cordis es el precursor de la porción infundibular del ventrículo derecho solamente y que en el ventrículo izquierdo queda constituyendo una pequeña porción del conus aórtico, de tal modo que la persistencia del espolón en el ventrículo izquierdo determina la estenosis subaórtica.



FRAZER (1916-1931) basó sus estudios en reconstrucciones de embriones humanos, pero sus ilustraciones son simples esquemas manuales. Sus figuras aparecieron en el manual de Anatomía de BUCHANAN (1927). FRAZER sigue manteniendo la idea de que del ventrículo primitivo se derivan el ventrículo derecho y el izquierdo, surgiendo el tabique del suelo del ventrículo primitivo. Para este autor no existe cierre del foramen interventricular verdadero (o primario) ya que para él este foramen interventricular permanece como la apertura en el vestibulo aórtico del ventrículo izquierdo. El crecimiento de los dos rodetes bulbares, sobre todo el izquierdo, se realiza a lo largo de las vertientes del foramen interventricular y por su fusión subsiguiente el canal aórtico está separado de la cavidad derecha que se continua con el orificio de la pulmonar. Las almohadillas aurículo-ventriculares fusionadas constituyen la totalidad de la pars membranacea.

FRAZER (1931) describe el proceso de la evolución de la cresta bulboventricular a partir de un embrión de 4,5 mm y observa cómo disminuye el volumen cuando se pasa a un embrión de 10 mm para acabar desapareciendo cuando se constituye el vestibulo aórtico.

WATERSTON (1918) hizo reconstrucciones de corazones humanos de 3mm, 6 mm, 8 mm, 12,5 mm, 16 mm, 20 mm, 30 mm y de la región del truncus arteriosus de un embrión de 9 mm. Para él, el surco bulboventricular externo representa el lugar del septum interventricular internamente. Idea compartida por MURRAY (1919). También descubrió que el ventrículo derecho



deriva en su totalidad del bulbus cordis.

**DAVIS** (1924) describe la jalea o gelatina cardíaca, sustancia que invade el espacio mioendocárdico. En 1927 publica su trabajo sobre morfogénesis del corazón hasta los 20 pares de somitos, que sirve de base para **STREETER** en la descripción de sus Horizontes (1942, 1945, 1948 y 1951).

**PERNKOPF Y WIRTINGER** (1933) estudiaron embriones humanos de seis, ocho y veintidós pares de somitos para continuar con uno de 4,5 mm y terminar con otro de 12 mm. Ellos vuelven a describir el origen de ambos ventrículos a partir del ventrículo común, el cual lo dividen en proampula (ventrículo izquierdo) y meta-ampula (ventrículo derecho). En la superficie señalan la separación con un surco que denominan interventricular o interampular. Estos autores señalan que hay dos etapas principales en el desarrollo del corazón. La primera se relaciona con la formación del asa bulboventricular y la torsión del bulbus de tal manera que, al finalizar esta etapa, los repliegues bulbares se incurvan en una espiral de 270°. La segunda etapa se relaciona con la absorción del bulbus siendo preciso que se produzcan marcados giros y torsiones para que todos los elementos queden alineados.

En 1939, **ODGERS** publica su trabajo "The development of the pars membranacea septi in the human heart", basándose en el estudio de embriones de 11,2, 11,4, 12,5, 14, 14,5, 15,5, 17 y 17,5 mm. Afirma que la porción superior del foramen interventricular observada en su embrión de 11,2 mm se

mantiene abierta constituyendo el canal aórtico, mientras que la porción caudal de dicho foramen se cierra para constituir la pars membranacea .

En 1942, KRAMER hace el estudio de la división del tronco y cono y la formación de la pars membranacea del tabique interventricular.

Los estudios de STREETER (1942, 1945 y 1948) y la descripción de los embriones de la Carnegie, encuadrándolos en sus Horizontes, permitió un mejor conocimiento de la cardiogénesis.

En 1956, DE LA CRUZ Y DA ROCHA desarrollan una teoría ontogenética para el estudio de las malformaciones cardíacas congénitas.

Basado en el material de DAVIS Y STREETER se publica en 1962 un importante trabajo por DE VRIES Y SAUNDERS que añaden cinco nuevas reconstrucciones a las existentes en la Institución Carnegie de Washington. En su trabajo se intenta resolver el problema de la morfogénesis del septum spiroideum del importante trabajo de GRANT(1962): "The embriology of ventricular flow pathways in man".

Con posterioridad se han desarrollado múltiples trabajos de gran valor por sus aportaciones al conocimiento de la embriogénesis cardíaca en sus diferentes aspectos: ROSENQUIST, ORTS LLORCA, PUERTA FONOLLA, GOOR, ANDERSON, MANASEK, PEXIEDER, OKAMOTO, WENINK, etc que harían interminable este repaso histórico. El desarrollo concomitante de técnicas de estudio cada vez mas perfeccionadas (microscopia electrónica

de barrido y transmisión, técnicas histoquímicas y de microcirugía, microcinematografía, etc) ha contribuido a este enorme enriquecimiento.



ASPECTO DESCRIPTIVO DE LA EMBRIOGENESIS CARDIACA  
EN EL EMBRION HUMANO

ASPECTO DESCRIPTIVO DE LA EMBRIOGENESIS CARDIACA EN EL  
EMBRIÓN HUMANO

La embriología cardíaca ha sido tradicionalmente una ciencia descriptiva. Esto ha originado una serie de estudios detallados que han conducido al conocimiento de la cronología estructural del corazón en su desarrollo a diferentes niveles desde el aspecto macroscópico hasta el ultraestructural. Basándose en estos datos se ha intentado discernir los mecanismos envueltos en la formación y malformación de las estructuras adultas. Para ello debe valorarse la biología celular básica de los elementos que constituyen una determinada estructura mediante los trabajos experimentales que buscan la relación entre las propiedades celulares y la forma del órgano.

A continuación vamos a describir brevemente los aspectos más relevantes de la embriogénesis cardíaca, refiriéndonos fundamentalmente al embrión humano.

La unión del gameto masculino y femenino da origen al cigoto que se transformará en blástula a través de la segmentación. La blástula es una estructura formada por dos capas o epiblasto con una cavidad o blastocelo entre ambas. En el epiblasto se localizan las preáreas cardíacas, en número de dos y a ambos lados de la línea primitiva.

Posteriormente, y mediante la gastrulación, la blástula

se transforma en gástrula y podemos observar tres hojas embrionarias: ectodermo, mesodermo y endodermo. A cada lado del nódulo de Hensen, situadas en el mesodermo, se encuentran las áreas cardiogénicas, anteriores a la aparición del primer par de somitos. Estas áreas darán lugar al esbozo cardíaco, primitivamente par, independientemente de su localización en la gástrula y van emigrando cefálicamente para ubicarse por delante del pliegue cefálico, con lo que ocupan una posición ventral.

Una vez que se ha completado el proceso de gastrulación, el embrión adquiere una forma cilíndrica y con ello se formará el tubo cardíaco. La placa cardiogénica, esbozo del mioepicardio, pasa a localizarse en la esplacnopleura, ya que el mesodermo se ha dividido, quedando anterior a la placa neural y con forma de herradura. Queda limitada dorsalmente por la cavidad pericárdica y ventralmente por el endodermo del saco vitelino. Conforme avanza el desarrollo del intestino anterior, la placa cardiogénica se desplaza de su posición cefálica, colocándose ventral con respecto al intestino.

La fusión de los tubos cardíacos comienza en la parte craneal y avanza en dirección caudal (embriones de 3-4 somitos, estadio 9, 20 días). (ORTS-LLORCA Y COL, 1960).

El tubo cardíaco primitivo (pre-asa) consta de un plexo interno formado por cordones de células endocárdicas, miocardio y entre las dos anteriores una sustancia laxa, la gelatina cardíaca. En el DAVIS (1927) describió las cavidades cardíacas primitivas que darán lugar a las definitivas y que

en sentido caudocraneal son la aurícula, ventrículo y bulbus cordis. Caudal con respecto a la aurícula se encuentra el seno venoso y craneal con respecto al bulbus cordis aparece una porción de la que salen los arcos aórticos: saco aórtico (CONGDON, 1.922). La estrechez que separa aurícula de ventrículo es el surco aurículoventricular y la que separa el ventrículo del bulbo es el surco bulboventricular.

ARGÜELLO Y COL, (1.975) y DE LA CRUZ Y COL, (1.977) demuestran mediante técnicas de marcaje in vivo en el embrión de pollo que en el estadio de pre-asa este órgano está constituido por el primordio de la porción trabeculada del ventrículo derecho cefálicamente y el primordio de la porción trabeculada del ventrículo izquierdo caudalmente.

En el embrión humano, entre los estadios de 7 a 20 somitos (estadio 10, 22 días), el tubo cardíaco comienza a incurvarse hacia la derecha para formar el asa bulboventricular, convexa a la derecha y cóncava a la izquierda, encontrándose localizada en el plano frontal. El asa tiene una porción derecha cefálica constituida por el bulbus cordis (primordio del ventrículo derecho) y una porción caudal (primordio del ventrículo izquierdo). En este estadio del desarrollo aparece el cono que da origen a los infundíbulos de ambos ventrículos. La incurvación, que se empieza a apreciar en el embrión de 7-8 somitos, adquiere la forma de una S acostada en embriones de 14 somitos. Debido a que la aurícula es todavía par, la curvatura del corazón empieza antes del final de la fusión de los primordios. La fusión de las aurículas se produce en

embriones de 21 a 29 somitos. (ORTS-LLORCA Y RUANO GIL, 1970).

Los mecanismos que dan origen a la formación del asa son desconocidos. DAVIS (1927), PATTEN (1939) Y VAN MIEROP Y COL, (1963) pensaban que el crecimiento del corazón, que duplicaba su longitud en este período de 7 a 20 somitos, era la causa de dicha curvatura pues la cavidad pericárdica no experimentaba un crecimiento similar. Para DAVIS la formación del asa podría explicarse por la interacción de dos fuerzas opuestas que originaban una depresión progresiva a nivel del surco bulbo-ventricular izquierdo y atrio-ventricular derecho. Pensaba que la formación del asa miocárdica precedía al interior del tubo, indicando que la iniciación de la formación del asa no reside en el endocardio y podía no depender de la dirección del flujo.

El inicio normal de la función cardíaca no es necesario para el desarrollo del asa cardíaca in situ. La capacidad de adquirir su forma es una propiedad intrínseca del corazón. Mientras parece posible que los factores hemodinámicos pueden ser necesarios para la arquitectura endocárdica normal en estadios posteriores, ni la contractilidad miocárdica ni el flujo sanguíneo son requeridos para la formación y mantenimiento de la forma del asa cardíaca (ORTS-LLORCA Y RUANO GIL, 1967; MANASEK Y MONROE, 1972).

ORTS LLORCA Y RUANO GIL (1970) introducían homoinjertos de tubos cardíacos de embrión de pollo en la cavidad celómica de los receptores. Cuando el injerto se desarrolló en el grosor del mesénquima del huésped, solo se diferenció el tejido

cardíaco muscular con contracciones a diferentes ritmos. Si se desarrolla en la cavidad celómica, la morfogénesis continua aunque las curvaturas pueden ser atípicas. Cuando el injerto va acompañado de tejido retrocardíaco, los resultados son aún mejores.

MANASEK Y MONROE (1972) introducían embriones de pollo en un medio rico en potasio con lo que se detenían las contracciones por despolarización de la membrana de la célula muscular cardíaca. Si se sustituye el medio rico en potasio por tyrode standard se produce un inicio rápido de la contractilidad. Esta diferenciación fisiológica implica que la morfogénesis continua en ausencia de una función normal.

El tubo cardíaco tiene la propiedad intrínseca de incurvarse pero se manifiesta sólo en un medio similar a la cavidad pericárdica. El tejido retrocardíaco y el endodermo de la porta intestinal anterior son factores necesarios para la morfogénesis normal (ORTS-LLORCA Y RUANO GIL, 1967; 1970).

Durante la formación del asa cardíaca pueden reconocerse, histológicamente, una capa externa o miocardio y una capa interna o endocardio. Entre ambas existe un espacio ocupado por la gelatina cardíaca (DAVIS, 1924). El miocardio está formado por miocitos en desarrollo (sucesores de las células del mesodermo esplácnico precardíaco). Estas células acumulan miofibrillas en el citoplasma y presentan capacidad fagocítica. La luz cardíaca queda limitada por las células endocárdicas que se alinean perpendicularmente con respecto a la luz. La gelatina cardíaca es una matriz extracelular

heterogénea compuesta por mucopolisacáridos, glicoproteínas, ácido hialurónico, condroitin sulfato, condroitin no sulfato y heparina. (GARCIA-PELAEZ Y COL. 1984).

Actualmente se piensa que en la formación del asa bulboventricular se encuentran implicados dos fenómenos fundamentales: citodiferenciación de los miocitos y ordenación propia de la gelatina cardíaca y sus componentes.

La septación cardíaca se inicia en el bulbus cordis, ventrículo y aurícula transformando el tubo cardíaco en un órgano con cuatro cavidades y dos sistemas circulatorios independientes.

Podemos distinguir dos mecanismos de septación: uno activo como sucede en el bulbus cordis y canal atrioventricular con crecimiento de tejido en lugares opuestos que se encontrarán y fusionarán posteriormente. Otro más pasivo en el que una porción de corazón no aumenta en diámetro o lo hace lentamente como sucede con los tabiques interatrial e interventricular que se completan secundariamente por proliferación del tejido vecino.

Según STEDING Y COL, (1984) existen dos mecanismos diferentes en la septación cardíaca: "septación fibrosa" que afecta los cojinetes endocárdicos atrioventriculares, tabicación bulbar y truncal y "septación muscular" interventricular. Ambos sistemas se continúan dividiendo ventrículos y tracto de salida longitudinalmente.

La septación atrial es bien conocida y existe acuerdo entre los embriólogos en cuanto a su descripción, a excepción

de la forma en que se origina el septum primum y en la absorción del seno venoso (PUERTA FONOLLA, 1976).

Por el contrario, la septación a nivel del bulbus y truncus así como el cierre de la comunicación interventricular varía mucho según los autores sin que exista un acuerdo unánime. Son estas regiones las de mayor interés para nosotros según podrá observarse cuando describamos los resultados de nuestro proyecto de investigación.

La iniciación de la septación cardíaca se debe en gran medida a causas hemodinámicas que actúan sobre el endocardio y el tejido subyacente o gelatina cardíaca determinando, por ejemplo, la disposición espiroidea del tabique bulbar sin que se produzca una "rotación" cardíaca como se había venido pensando (ORTS LLORCA Y COL. , 1980).

La formación del tabique interventricular comienza en el estadio 12 (26 días) (MCBRIDE Y COL. , 1981) en forma de crecimiento hacia abajo y afuera a cada lado del asa ventricular. El relieve cada vez mayor de esta porción del tabique interventricular ( pars muscosa) va separando el esbozo de las porciones trabeculadas correspondientes a los ventrículos derecho e izquierdo.

En embriones del estadio 13 (28 días) puede observarse un orificio atrioventricular que comunica la aurícula común con el ventrículo izquierdo . Este a su vez se comunica con el ventrículo derecho mediante el orificio interventricular primario o bulboventricular limitado caudalmente por el tabique interventricular y cranealmente por el espolón



bulboventricular.

Durante el estadio 14 (32 días) se produce el desplazamiento hacia la derecha del foramen atrioventricular, limitado por los cojinetes que están formados por gelatina cardíaca. Dicho desplazamiento se ve favorecido por disminución del relieve del espolón bulboventricular. (ORTS LLORCA Y COL. , 1980).

El foramen atrioventricular se transforma en una hendidura oblicua, hacia atrás y a la izquierda, en embriones del estadio 19 (48 días) de forma que la sangre por su parte izquierda va al ventrículo izquierdo y por la derecha a la porción trabeculada del ventrículo derecho. Craneal a éste se observa el bulbus cordis con el esbozo de sus rodetes: uno, lateral y dorsal y otro, medial y ventral.

La llegada de sangre al ventrículo derecho y la desaparición del espolón bulboventricular origina una aparente migración del bulbus hacia la izquierda, que se acompaña de la absorción del cono o porción distal del bulbus por parte del ventrículo derecho. De esta forma, la porción del bulbus que formará el infundíbulo aórtico se coloca a caballo sobre el tabique interventricular como puede apreciarse en embriones del estadio 18 (ORTS LLORCA Y COL. , 1980).

Por otro lado, la parte posterior del segmento distal del bulbus inhibe su crecimiento y pasa a formar parte del ventrículo derecho. Para GOOR Y COL. (1972) Y ANDERSON Y COL. (1974) como consecuencia de esta absorción bulbar se produce la migración bulbar que coloca la aorta sobre el

ventrículo izquierdo y la continuidad mitro-aórtica con reorientación del foramen bulboventricular. GOOR Y COL. (1972) afirman que existe una verdadera reducción en la longitud del cono aórtico, mientras que la aorta ascendente crece en la misma medida. Por el contrario, no existe cambio en la longitud del truncus durante este período.

Durante el proceso de incorporación del cono al segmento ventricular (33-35 días), el foramen interventricular primario queda desplazado hacia la izquierda, constituyendo el infundíbulo aórtico y formándose una nueva comunicación interventricular: el foramen interventricular secundario delimitado cranealmente por el cojinete atrioventricular inferior y rodetes bulbares y caudalmente por el borde libre del septum interventricular primitivo.

Los cojinetes atrioventriculares adquieren gran desarrollo en los estadios tempranos del desarrollo cuando las comunicaciones interatrial e interventricular son de proporciones importantes. Cuando se completa la septación, las áreas ocupadas por los cojinetes se restringen a los lugares de cierre final de dichas comunicaciones (WENINK Y GITTENBERGER-DE GROOT, 1985). Para estos autores, el principal papel que juegan los cojinetes endocárdicos es mantener juntos los componentes septales musculares que, de otra forma, tenderían a crecer separadamente.

La fusión de los cojinetes atrioventriculares superior e inferior para formar el septum intermedium que separará los orificios mitral y tricuspideo acontece más tardíamente de lo

que se encuentra descrito en la literatura. Efectivamente, en embriones del estadio 17-18 (41-44 días) puede observarse un espacio entre ambos cojinetes e, incluso en embriones mayores (estadio 20 ; 21 y más mm) se aprecia aún la línea de fusión entre ambos. Este espacio formará un canal que comunica la aurícula derecha con el infundíbulo aórtico, canal que constituye la tercera raíz del infundíbulo aórtico en los estadios que preceden al cierre de la comunicación interventricular (ORTS LLORCA Y COL. 1981). Ya ODGERS (1938) lo describe en embriones humanos de 11,2 a 17,5 mm. En su embrión de 14,5 mm, los márgenes adyacentes de los rodets bulbares se han unido completamente para formar un septum bulbar proximal, aunque la línea de coaptación puede distinguirse incluso en embriones de 17,5 mm.

Para ODGERS, la participación del rodete bulbar izquierdo al septum interventricular divide el foramen interventricular original en dos partes. La porción craneal y dorsal al rodete permanece como infundíbulo aórtico; la porción inferior y ventral se rellena por proliferación activa de los tubérculos derechos de los cojinetes atrioventriculares fusionados para formar la mitad inferior y ventral de la pars membranacea. La porción dorsal y superior del septum membranaceo deriva de los propios cojinetes atrioventriculares fusionados. El cree que el septum bulbar es responsable de la separación de los infundíbulos aórtico y pulmonar, pero no contribuye a la oclusión del foramen interventricular o formación de la pars membranacea.

La tabicación de bulbus y truncus son dos procesos independientes. **KRAMER** (1942) demuestra que no hay continuidad entre los rodetes del bulbus y truncus, estableciéndose la interrupción entre ambos a nivel de las válvulas semilunares. Para este autor el septum interventricular membranáceo se cierra entre los estadios de 15 y 17 mm. Al principio es una masa gruesa de tejido endocárdico que ocluye el foramen desde el cono aórtico hacia el ventrículo derecho. Es mucho más tarde cuando comienza a diferenciarse como tejido conectivo fibroelástico densamente entretejido para formar el septum membranáceo en su forma adulta.

**GRANT** (1962) afirma que los rodetes bulbares no se fusionan nunca con los del truncus. Además existe una diferente estructura histológica: mientras que a nivel del bulbus es mioblástica no trabeculada, a nivel del truncus es fibroblástica.

Por otro lado la septación truncal es completa en embriones humanos de los estadios 16 y 17, mientras que en el bulbus no existe todavía septación con comunicación entre sí de ambos conos o infundíbulos aórtico y pulmonar (**ORTS LLORCA Y COL.** 1981).

El truncus no pertenece propiamente al corazón sino al sistema arterial, derivando del alargamiento y dilatación del sacus aórtico, porción de la que derivan los arcos arteriales. Estos arcos arteriales, principalmente el 3º, 4º y 6º "anclan" el truncus a la cara dorsal de la faringe impidiendo que sufra

rotaciones (ORTS LLORCA Y COL. 1981).

En embriones del estadio 14 (32 días) puede apreciarse, en las caras dorsolateral y medioventral del bulbus, acumulaciones de gelatina cardíaca que van a dar lugar a los rodetes bulbares que por su situación son dorsolateral (derecho de GRANT; parietal de LOS) y ventromedial (izquierdo de GRANT; septal de LOS). Empiezan a formarse en el lugar donde se esbozan las válvulas sigmoideas. De aquí avanzan en dirección proximal delimitando una separación incompleta entre una porción dorsomedial (futuro infundíbulo aórtico) y otra ventrolateral (futuro infundíbulo pulmonar). Si seguimos en dirección proximal observaremos que el rodete derecho se continua y confunde con la parte lateral derecha de los cojinetes atrioventriculares mientras que el izquierdo llega a la porción superior y derecha del tabique interventricular.

En los embriones de los estadios 17 a 20 (13 a 20 mm.) tienen lugar los procesos fundamentales que conducen a la tabicación definitiva de los infundibulos aórtico y pulmonar y a la separación de ambos ventrículos.

El infundíbulo aórtico presenta tres raíces de origen:

- 1) Raíz que procede del ventrículo izquierdo para dar lugar al infundíbulo aórtico. Es la reestructuración del foramen bulboventricular o interventricular primitivo. Por tanto, este orificio no se cerrará nunca (ODGERS, 1938; ORTS LLORCA Y COL. 1970).
- 2) Raíz que procede del ventrículo derecho o foramen interventricular secundario que disminuye progresivamente de

calibre en estadios sucesivos y a cuyos límites ya hemos hecho referencia anteriormente.

3) Foramen infundíbulo-atrial que pone en comunicación el infundíbulo aórtico y la aurícula derecha (ORTS LLLORCA Y COL. 1981).

Para PEXIEDER Y COL. (1984) existirían, al menos, dos diferentes comunicaciones: una conectaría la porción aórtica del conotruncus al ventrículo izquierdo y la otra relacionaría la cavidad ventricular derecha con el vestíbulo aórtico.

Con respecto al cierre del foramen interventricular secundario y la formación de la "pars membranácea" del tabique interventricular, existen divergencias por parte de los autores con respecto a la proporción en la que participan los distintos materiales: rodetes bulbares izquierdo y derecho y cojinetes atrioventriculares superior e inferior.

El rodete bulbar izquierdo (ventromedial o septal) desciende por la parte anterior y medial del bulbus para alcanzar el borde libre del tabique interventricular en su parte anterior. El rodete bulbar derecho (que es dorsolateral o parietal), alcanza la parte derecha de los cojinetes atrioventriculares, ocupando la concavidad que éstos forman y limitando lateralmente el foramen tricuspídeo para perderse en la pared muscular del ventrículo derecho.

Los cojinetes atrioventriculares crecen mucho hacia la luz endocárdica y contribuirán a la formación de la pars membranácea. El cojinete inferior alcanza la parte posterior del borde libre del tabique interventricular, interponiéndose

entre ambos la prolongación del rodete izquierdo.

Al producirse la fusión de los cojinetes atrioventriculares se puede reconocer dos porciones en la pars membranacea: una superior o infundíbulo-atrial derecha y otra interventricular que une el infundíbulo aórtico con el ventrículo derecho. Cuando se forma más tarde la válvula septal de la tricúspide, la inserción de esta válvula en la pars membranacea separará la porción infundíbulo-atrial de la interventricular o bulboventricular (ORTS LLORCA Y COL. 1981).

Para GOOR Y COL (1970) el cierre del foramen interventricular tiene lugar entre los estadios 17 a 19 de forma que un tejido mesenquimatoso parte del lado derecho del cojinete atrioventricular inferior que crece ventralmente.

WENINK (1971, 1974, 1981) piensa que toda la porción membranacea, situada por debajo de la inserción de la válvula septal de la tricúspide, deriva del rodete izquierdo que crece a modo de gancho hacia atrás y abajo a lo largo del borde libre del tabique interventricular, separando ésta de los cojinetes atrioventriculares.

ORTS LLORCA Y COL. (1981) piensan que el rodete izquierdo puede seguirse a lo largo del borde libre del tabique interventricular pero sólo en su parte anterior y superior.

Para estos autores la válvula septal de la tricúspide deriva del cojinete inferior y no del rodete izquierdo del bulbo como piensa WENINK.

LOS (1970-1971) niega la importancia que da WENINK al

rodete izquierdo en la formación de la pars membranacea y acepta, por el contrario, que el cojinete inferior llega a contactar con el tabique interventricular.

Para LOS (1978) la comunicación entre aurícula derecha e infundíbulo aórtico se cierra por la porción superior del cojinete atrioventricular superior.

A continuación vamos a centrarnos en el proceso de septación que sufre el truncus arteriosus. Con anterioridad vimos que el bulbus cordis y el truncus arteriosus son dos porciones independientes del polo arterial del corazón, separadas por las válvulas sigmoideas y cuya embriogénesis, septación y estructura son distintas.

En el corazón adulto, el truncus arteriosus está formado por la aorta ascendente y el tronco de la arteria pulmonar. Su formación depende de la invaginación y alargamiento del sacus en el interior de la cavidad pericárdica acompañado por mesénquima peribranquial (DE VRIES, 1981).

Durante el estadio 12 (26 días) comienza a observarse, a continuación del bulbus y en el interior de la cavidad pericárdica, un truncus arteriosus al principio muy corto, que se acompaña de una forma típica de corazón en "bayoneta" ya que el borde derecho del truncus forma un ángulo recto con el borde superior del bulbus (OKAMOTO Y COL. 1978; ORTS LLORCA Y COL. 1982).

Al final del estadio 13 (28 días) desaparece el ángulo entre el truncus y bulbus mientras éste crece para formar la porción trabeculada del ventrículo derecho y ambos forman una



curva ligeramente convexa hacia la derecha. Es precisamente en el ángulo formado entre estas dos estructuras donde se desarrollan las válvulas sigmoideas.

La septación truncal se inicia en los embriones de los estadios 14-15 (32-33 días), una vez que se han formado los sextos arcos arteriales. Se produce un avance mesenquimal en dirección proximal que separa una parte dorsal y medial (futuro truncus pulmonalis) de otra ventral y lateral (futura porción de la aorta ascendente intrapericárdica). En dirección ventral puede observarse una comunicación entre aorta y arteria pulmonar para formar un tronco único. ORTIZ LLORCA Y COL. (1982) describen una "isla mesenquimal" separando ambos vasos. A nivel del bulbus no se ha iniciado la septación haciendo relieve en su luz los rodetes bulbares derecho e izquierdo.

A partir del estadio 16 pueden reconocerse los esbozos de las válvulas sigmoideas, punto donde se interrumpe la estructura miocárdica. En embriones de estadios 16-17 la septación truncal ha concluido y la aorta y arteria pulmonar quedan separadas por mesénquima.

Al parecer el avance del mesénquima que determina la septación a nivel del truncus es de causa hemodinámica. MCBRIDE Y COL. (1981) piensan que la septación a este nivel es el resultado de factores mecánicos y que puede observarse dicha septación en embriones de los estadios 18 y 19. Entre los sextos y cuartos arcos se origina una cuña de mesénquima (crista dividens) que será el primer esbozo del septum

aórtico-pulmonar (ORTS LLORA Y COL. 1982).

Para ARTEAGA Y COL. (1984), en embriones de  $29 \pm 1$  días, la capa de gelatina cardíaca a nivel del truncus se va remodelando para formar las crestas truncales superior e inferior, de disposición longitudinal, que dividen al truncus en una porción derecha y otra izquierda. Las crestas truncales y conales (rodetes bulbares) van aproximándose entre sí hasta que al final contactan y se continúan entre ellas ( $31 \pm 1$  días) de tal forma que la cresta truncal superior se continua con el rodete derecho del cono y la cresta truncal inferior con el rodete izquierdo del cono. De esta manera, la porción derecha del truncus queda conectada con el cono pósteromedial y la porción izquierda con el cono ánteromedial.

Al mismo tiempo, en el interior del saco aórtico comienza a desarrollarse una cresta mesenquimal que separa entre sí a los cuartos y sextos arcos aórticos y que es denominado septum aórtico-pulmonar que se va haciendo cada vez más aparente, adoptando una forma semilunar, con un asta súperoizquierda que se continua con la cresta truncal superior y un asta inferoderecha en la continuidad con la cresta truncal inferior ( $33 \pm 1$  días). De esta forma, el cuarto arco aórtico queda conectado a la porción derecha del truncus y el sexto arco aórtico a la porción izquierda del truncus.

Para SEIDL Y STEDING (1981) este proceso de fusión junto con la diferente dirección de las porciones laterales derecha e izquierda del septum, explican el hecho de que el septum sea espiral intrínsecamente y no por rotación.

Otros autores como LOS (1978) discuten la existencia del septum aórtico-pulmonar (it is "shown to be an artefact of two-dimensional histology").

ANSELMY Y COL. (1984) piensan que cuando las grandes arterias se cruzan normalmente, la orientación de los rodetes bulbares ( derecho e izquierdo ) y la rotación de 180° en el sentido de las manillas del reloj comunica el infundíbulo del ventrículo anatómicamente derecho, que es anterior y a la derecha, con el sexto arco aórtico que es posterior y a la izquierda. El infundíbulo del ventrículo anatómicamente izquierdo que es posterior y a la izquierda, comunica con el cuarto arco aórtico situado enfrente y a la derecha. Por esta razón la aorta se origina normalmente detrás de la arteria pulmonar desde el ventrículo anatómicamente izquierdo y se dirige hacia arriba, frontal y a la derecha, cruzando la arteria pulmonar.

Para OKAMOTO Y COL. (1978) en el estadio 15 se forman dos engrosamientos en la luz del truncus por proliferación de células mesenquimales: crestas truncales dextrosuperior y sinistroidinferior. En los estadios 16-17 estas crestas se fusionan y casi simultáneamente se invaginan células mesenquimales extracardiacas que se fusionan con el extremo distal del punto de fusión de las crestas truncales, completando la septación entre la aorta ascendente y el tronco pulmonar. En estos estadios no puede observarse todavía la fusión de los rodetes bulbares, fusión que tendrá lugar entre los estadios 17-18 para formar el septum conal.

Finalmente , vamos a considerar la embriogénesis de los arcos aórticos que son formaciones vasculares incluidas en el mesénquima de los arcos branquiales y que comunican el saco aórtico con las aortas dorsales del embrión. Estas estructuras se modifican constantemente durante el desarrollo embrionario de forma que nunca están todos presentes. En principio se forman seis pares de arcos aórticos , aunque el quinto desaparece rápidamente y nunca se desarrolla por completo.

El primer arco aórtico o arco mandibular se forma desde el período de pre-asa (22 días) como continuación de los tubos endocárdicos primitivos hasta alcanzar las aortas dorsales. Permanece una pequeña porción que forma el arco arterial mandibular , desapareciendo hacia los 28 días.

El segundo arco aórtico aparece al mismo tiempo (22 días) desapareciendo hacia los 29 días y dando lugar a las arterias hioideas y del músculo del estribo.

El tercer arco aórtico se desarrolla a los 26-28 días y su importancia deriva de la formación de las arterias carótidas comunes o primitivas y porción proximal de las arterias carótidas internas. La arteria carótida externa se forma por evaginación del tercer arco aórtico que se une a las porciones restantes del primero y segundo arcos.

El cuarto arco aórtico aparece también sobre los 28 días y persiste bilateralmente dando lugar por el lado izquierdo al cayado aórtico y arteria subclavia izquierda y por el lado derecho al tronco arterial braquiocefálico derecho y al

segmento más proximal de la arteria subclavia derecha.

El sexto arco aórtico se desarrolla en embriones de 29-32 días y sus porciones proximales van a dar lugar a los segmentos iniciales de las arterias pulmonares derecha e izquierda. En el lado izquierdo persiste la porción distal dando lugar al "ductus arteriosus" (SISSMAN , 1970 ; O'RAHILLY, 1971 ; GRAY Y SKANDALAKIS ,1975 ; SEIDL Y STEDING , 1981).

ASPECTO DESCRIPTIVO DE LA EMBRIOGENESIS CARDIACA

EN EL EMBRION DE POLLO

ASPECTO DESCRIPTIVO DE LA EMBRIOGENESIS CARDIACA EN EL EMBRION DE POLLO.

El esbozo del corazón en el embrión de pollo se puede apreciar por primera vez en embriones fijados durante el estadio 8 de HAMBURGER-HAMILTON (1951) (26-29 horas; 3-5 somitos). A cada lado, la esplacnopleura del área pericárdica del celoma muestra un engrosamiento que se denomina placa cardiogénica o esbozo del primordio miocárdico (DE LA CRUZ Y COL, 1972).

En embriones más jóvenes (estadio 5), ROSENQUIST y DE HAAN (1966) confirman que las células prospectivas cardíacas se localizan en una zona con forma de suela de zapato continua a través de la línea media en la región pre-notocordal.

ORTS-LLORCA y JIMENEZ COLLADO (1968) utilizando homoinjertos del área prospectiva cardíaca en el estadio 5, marcados con timidina, comprueban que si el área cardíaca derecha o izquierda del embrión donante se introduce en el lado izquierdo del huésped, el resultado es un corazón con incurvación normal. Pero si el área cardíaca izquierda se introduce en el lado derecho del huésped, se obtiene un

corazón invertido en ocasiones.

En otra publicación de 1969, los mismos autores utilizan injertos heterólogos de área no cardíaca al área cardíaca de embriones huéspedes en el estadio 5. El tejido introducido tiene la capacidad de diferenciarse en tejido cardíaco y el corazón se incurva normalmente.

Los autores concluyen que la diferencia entre el potencial de desarrollo de las áreas prospectivas cardíacas derecha e izquierda no es la única causa de la incurvación cardíaca. Existe una influencia sobre el primordio cardíaco por parte de las zonas próximas del huésped. La diferencia entre los movimientos morfogenéticos de los dos lados del cuerpo es muy sugestivo.

En el estadio 9 (29-33 horas) grupos de células mesoteliales se separan del mesodermo pre-miocárdico y migran medialmente con el mesodermo esplácnico dando lugar a dos tubos endoteliales: tubos endocárdicos. Simultáneamente, los esbozos miocárdicos empiezan a tomar forma semicircular, cerrando, cada uno dentro de su concavidad, el tubo endocárdico homolateral. Durante este estadio y como consecuencia del proceso de plegamiento embrionario, los tubos endocárdicos se desplazan hacia la línea media, donde se encuentran y fusionan, formando un tubo endocárdico único medial, inmediatamente inferior al suelo del intestino anterior (DE LA CRUZ Y COL, 1972).

CASTRO QUEZADA Y COL. (1972) mediante técnicas de marcaje y disección del tubo cardíaco, demuestran que la



fusión de los dos primordios cardíacos ocurre en el estadio 9 a nivel del conus y que el truncus se desarrolla in situ posteriormente. Mediante microscopia electrónica se comprueba la existencia de un gradiente de diferenciación caudocefálica de forma que las partes más diferenciadas son las más cercanas al cono. Este proceso de fusión se produce en la línea media del embrión y no en el lado derecho paramedial.

Para estos autores la asimetría del tubo cardíaco aparece en el estadio 10 (33-38 horas), cuando la porción cefálica del borde derecho llega a ser más convexa. Durante dicho estadio el surco caudal izquierdo es el futuro surco interventricular, mientras que el surco caudal derecho no será el surco derecho atrioventricular como se pensaba puesto que éste último aparece en el estadio 11.

ARGUELLO Y COL (1975), mediante un experimento similar al desarrollado por CASTRO QUEZADA Y COL (1972), comprueban que el proceso de fusión de la esplacnopleura tiene lugar en embriones de estadios 8+ y 9 en una dirección cefálica desde el punto de fusión de ambos primordios cardíacos.

DE LA CRUZ Y COL (1977), mediante técnicas de marcaje in vivo para localizar las regiones prospectivas de conus y truncus, concluyen que la fusión de los primordios miocárdicos tiene lugar a nivel de la futura porción trabeculada del ventrículo derecho durante el estadio 9, cuando todavía no están presentes ni el conus ni el truncus.

STALSBERG (1969), mediante técnicas de marcaje radiactivo, comprueba que en el estadio 10 existe mayor

aportación al epimiocardio desde el lado derecho que desde el izquierdo. Esta relación se mantiene en la porción cefálica del asa bulboventricular en estadios posteriores. En la porción caudal del asa bulboventricular la relación se invierte con mayor cantidad de células partiendo desde el lado izquierdo, de tal forma que la asimetría en el número de células puede ser la expresión de una diferencia primitiva entre las potencias de desarrollo de los primordios cardíacos derecho e izquierdo determinando la ulterior disposición del asa cardíaca.

Durante el estadio 10, el corazón es un tubo recto localizado en la línea media y ventral con respecto al intestino anterior. Su pared está constituida por el endocardio y el miocardio.

El proceso más característico del estadio 11 (40-45 horas) es la torsión del corazón en el plano frontal. El tubo cardíaco se encuentra fijo en el extremo cefálico por la continuidad del futuro truncus arteriosus con las raíces ventrales de la aorta y en el extremo caudal por la continuidad de la aurícula con las venas vitelinas. La parte media de la porción bulboventricular (bulbus cordis y ventrículo primitivo) es relativamente libre en el interior de la cavidad pericárdica, aunque unida al suelo del intestino anterior mediante el mesocardio dorsal. Estos factores mecánicos determinan la mayor movilidad de la porción bulboventricular con respecto al resto del corazón (DE LA CRUZ Y COL, 1972).

La torsión del tubo cardíaco depende de dos primordios -uno derecho y otro izquierdo- con diferentes potencialidades de desarrollo. Por tanto, la formación de un asa bulboventricular de convexidad a la derecha es una propiedad intrínseca del tubo cardíaco, que sólo se desarrollará en una cavidad similar a la pericárdica (ORTS-LLORCA Y RUANO GIL, 1967; MANASEK Y MONROE, 1972). Esta propiedad no se pone de manifiesto en el espesor del mesénquima embrionario. El tejido retrocardíaco y el endodermo de la porta intestinal anterior son factores necesarios para una morfogénesis normal. Estos autores demuestran que el flujo sanguíneo no ejerce influencia en la morfogénesis cardíaca pero sí sobre la estructura cardíaca : cuando existe circulación se forman endocardio y miocardio con su estructura típica.

Para MANASEK Y COL (1984) es preciso la participación de dos factores como mínimo en el proceso de torsión:

- a) presión interna;
- b) porción más elástica en la cara dorsal (mesocardio dorsal).

Si el balón emplea el aire como medio de distensión, estos autores proponen que el corazón utilice la gelatina cardíaca. Los glicosaminoglicanos de la gelatina cardíaca, producidos a lo largo del desarrollo del tubo cardíaco, son poco degradados por las hialuronidasas endógenas. Existe, por tanto, una acumulación continua que podría "sobresaturar" el corazón, produciendo una presión excesiva. De esta forma, la torsión del miocardio depende de un producto miocárdico: la

gelatina cardíaca, descrita por DAVIS (1924) en el embrión de pollo como una sustancia homogénea y transparente entre endocardio y miocardio y cuyo significado funcional en el corazón tubular fue analizado por BARRY (1948) que le adjudica importantes funciones mecánicas. HURLE Y COL (1980) analizan la gelatina cardíaca mediante microscopio electrónico de transmisión, barrido y estudio histoquímico concluyendo que existen diferencias estructurales e histoquímicas entre la gelatina cardíaca que se encuentra entre miocardio y endocardio y la que rellena el mesocardio dorsal así como que se trata de un material no homogéneo en relación con los procesos morfogénéticos del corazón en sus primeros estadios de desarrollo.

Durante el proceso de torsión en el plano frontal, el surco bulboventricular izquierdo y el atrioventricular derecho comienzan a profundizar, mientras que el surco bulboventricular derecho y el atrioventricular izquierdo comienzan a marcarse progresivamente menos. El resultado es la formación del asa bulboventricular, que es un asa dextroconvexa dirigida a la derecha del cuerpo embrionario, mientras que sus extremos cefálico y caudal permanecen en la línea media. La porción cefálica y situada a la derecha del asa bulboventricular está constituida por el bulbus cordis y su porción caudal y dirigida hacia la izquierda por el ventrículo primitivo (DE LA CRUZ Y COL, 1972).

El inicio normal de la función cardíaca (contracción y flujo sanguíneo) no es necesario para el desarrollo del asa

cardíaca in situ (MANASEK Y MONROE, 1972). Es en este estadio, 11 de H-H, cuando las contracciones se hacen regulares.

Para PATTEN (1922) el proceso de torsión cardíaca se produce por la elongación que sufre el tubo cardíaco en este período. La torsión es lateral (o frontal) debido al impedimento dorsal ofrecido por el cuerpo del embrión y ventralmente por el saco vitelino. Por qué tiene lugar hacia la derecha en vez de hacia la izquierda es algo que se desconoce.

Según BREMER (1928) las fuerzas fundamentales que van a transformar el corazón en forma de S según el plano frontal a un corazón con cuatro cámaras y doble circulación parecen deberse, a excepción del septum interatrial, a un continuo crecimiento en el interior de un espacio cerrado y a la fuerza centrífuga de la sangre que fluye alrededor de curvas pronunciadas.

Durante el estadio 12 (45-49 horas), el proceso de torsión del corazón se completa en el plano frontal y comienza en el plano sagital.

Simultáneamente, la convexidad del asa bulboventricular comienza su desplazamiento hacia el extremo caudal del embrión. Este desplazamiento del segmento en una dirección caudal continuará en estadios posteriores simultáneos con la torsión del corazón en el plano sagital. La realización de este desplazamiento a lo largo del eje longitudinal determinará cambios importantes en las relaciones topográficas entre la

aurícula y los ventrículos. De esta forma, la región auricular que originalmente es caudal con respecto a la región ventricular, se situará de forma definitiva en una posición cefálica con respecto a los ventrículos.

Durante este estadio se completa la fusión de los tubos cardíacos derecho e izquierdo en la región caudal. La aurícula completa su fusión con lo que se constituye la primitiva aurícula (DE LA CRUZ Y COL, 1972).

A lo largo del estadio 13 (49-52 horas) continua la torsión del corazón en el plano sagital. Aparece la porción caudal del conus, que constituye el extremo cefálico del tubo cardíaco (DE LA CRUZ Y COL, 1977). Dado que el embrión se apoya sobre su lado izquierdo, el tubo cardíaco tiene suficiente espacio libre para comenzar a desplazarse en una dirección ventral. Otro factor que contribuye a la liberación de los movimientos del corazón en esta dirección es la ruptura del mesocardio dorsal a nivel de la región bulboventricular.

Mediante este desplazamiento según el plano sagital, el asa bulboventricular presenta una convexidad dirigida ventralmente y hacia la derecha y una concavidad que se dirige dorsalmente y hacia la izquierda (DE LA CRUZ Y COL, 1972).

Según MANASEK Y COL (1984) las miofibrillas son las responsables más directas de la rotación cardíaca. La miofibrillogénesis ocurre normalmente en el miocardio mientras se produce la rotación cardíaca y parece necesaria en la obtención de una morfogénesis cardíaca normal.

Al mismo tiempo que se produce la torsión en el plano

sagital, el asa bulboventricular se desplaza a lo largo de su eje longitudinal en una dirección caudal, desplazamiento favorecido por la flexión del propio embrión ya que la cabeza llega a contactar con el tubo cardíaco. Así, el ventrículo primitivo mantiene su posición a la izquierda, discretamente ventral y caudal con respecto a la aurícula y dorsal con respecto al bulbus cordis. Este desplazamiento en dirección caudal alcanza su máximo desarrollo durante el estadio 15 (50-55 horas) y se completa durante el estadio 17 (52-64 horas) (DE LA CRUZ Y COL, 1972). Al mismo tiempo (estadio 17) se inicia el desplazamiento del truncus arteriosus en el plano sagital de forma que se dirige ventralmente y ocupa una posición anterior con respecto a la aurícula. Como consecuencia de este desplazamiento, el bulbus cordis adquiere una situación progresivamente más ventral y el ventrículo primitivo una situación más dorsal con respecto al bulbus cordis. Al final de este estadio empieza a hacerse aparente el estrechamiento que originará el canal atrio-ventricular.

Por otro lado, en el extremo caudal del tubo cardíaco las dos venas onfalomesentéricas, derecha e izquierda, se unen y forman el ductus venosus cuyo contenido sanguíneo se mezcla con el procedente de las venas cardinales comunes derecha e izquierda para formar los conductos de Cuvier que desembocan finalmente en el seno venoso, cavidad que comunica con la aurícula derecha en el embrión de pollo y que llevará el control de la actividad cardíaca a partir de este estadio (DE LA CRUZ Y COL, 1972).

A lo largo del estadio 25 (4,5-5 días) empiezan a ser notables los diferentes procesos de septación cardíaca. Al igual que hemos hecho con el embrión humano, obviemos la descripción de la septación auricular puesto que no guarda relación con nuestro proyecto de investigación.

A nivel del canal atrio-ventricular, los cojinetes endocárdicos superior e inferior (ventral y dorsal para DE LA CRUZ Y COL, 1972) progresan uno hacia el otro en el plano sagital y se encuentran casi contactando. Por encima, ambas aurículas comunican a través del ostium primum y por debajo lo hacen ambos ventrículos por encima del tabique interventricular, que es aún rudimentario. A lo largo del estadio 28 (5,5-6 días) ya se ha producido la fusión de estas estructuras observándose tan solo una pequeña hendidura en sus extremos caudales (HAY Y LOW, 1972; LOS Y VAN EIJNTHOVEN, 1973). En estadios posteriores esta zona de los cojinetes fusionados originará la porción septal de la válvula aurículo-ventricular izquierda, de desarrollo idéntico en el hombre y pollo. Por el contrario, la válvula aurículo-ventricular derecha en el embrión de pollo se constituye por una porción grande, lateral y de naturaleza muscular (DE LA CRUZ Y COL, 1972). De esta forma, la válvula tricúspide diverge en su constitución entre el embrión humano y el de pollo. Mientras que en el primero está formada por tres valvas, en el pollo sólo se aprecian dos.

Durante el proceso de fusión de los cojinetes atrio-ventriculares no se observan cambios celulares



regresivos, sino actividad mitótica (HAY Y LOW, 1972) y posiblemente incluso transformación eritroblástica (LOS Y VAN EIJNTHOVEN, 1973). Estos últimos autores observan interdigitación de las células endoteliales bajo microscopio óptico y con el microscopio electrónico puede apreciarse cómo las células endoteliales que se fusionan forman procesos citoplásmicos largos que protruyen libremente hacia la luz para unirse con otros similares procedentes de otras células. Puede observarse también un retículo endoplásmico denso que traduce la actividad de síntesis proteica así como una mayor densidad mitocondrial en las células que se fusionan.

Mediante técnicas de marcaje, DE LA CRUZ Y COL (1983) estudian la contribución del cojinete endocárdico inferior al canal atrio-ventricular en el embrión de pollo. Esta estructura dará lugar a la porción del septum atrio-ventricular entre la inserción septal de la valva ántero-septal de la válvula mitral y la porción fibrosa equivalente en el humano a la valva septal de la válvula tricúspide; porciones de los tabiques interatrial e interventricular adyacentes al septum atrio-ventricular; porción de la valva ántero-septal de la válvula mitral que se inserta en el septum; porción fibrosa correspondiente a la valva septal de la válvula tricúspide.

Utilizando las mismas técnicas de marcaje, GARCIA-PELAEZ Y COL (1984) analizan la contribución del cojinete endocárdico superior al desarrollo normal del infundíbulo ventricular izquierdo en lo que se refiere a la formación de sus paredes

pósterio-lateral y ántero-medial.

El septum interventricular, aparecido en estadios previos, empieza a hacerse más prominente ocupando aproximadamente un cuarto de la distancia entre el ápex cardíaco y los cojinetes atrio-ventriculares (DE LA CRUZ Y COL, 1972). Es el resultado del crecimiento de dos "sacos" trabeculados a partir del borde ventral de la superficie interna del asa bulboventricular, uno en la porción bulbar y otro en la ventricular. Estos sacos o bolsas empiezan a profundizar hasta que se unen y forman una pared común: tabique interventricular primitivo.

Para ROMANOFF (1960) el desarrollo de los ventrículos empieza durante el tercer día de incubación del embrión como una expansión del fondo de la curva ventricular del tubo cardíaco causado por la fuerza centrífuga de la corriente sanguínea. La expansión consiste en múltiples vesiculaciones hacia fuera (exofíticas) de la pared ventricular. De esta forma, las bandas musculares que separan las pequeñas bolsas aneurismáticas constituyen el primer esbozo de las trabéculas carnosas de los ventrículos. Al final del cuarto día, el tabique interventricular está formado por trabéculas libres poco diferentes de aquéllas que constituyen las paredes ventriculares. Su posición corresponde a la del surco interventricular en la superficie externa del corazón.

Durante el quinto día, el septum interventricular sigue creciendo alrededor del ápex cardíaco desde la pared dorsal de la cavidad ventricular hacia la ventral. Su borde libre es

una curva de concavidad dirigida cranealmente, hacia la base cardíaca. El tabique se inclina hacia la derecha, de forma que su borde libre se dirige hacia el lado derecho de los cojinetes endocárdicos y, al final del quinto día, la porción dorsal del septum llega a continuarse con el lado derecho de los cojines endocárdicos. Mientras tanto, el ventrículo derecho sigue creciendo y toda la porción ventricular rota hacia la izquierda, llevando el ventrículo derecho y el bulbus a una posición más ventral.

Según observa ROMANOFF, la estructura trabecular del tabique interventricular sigue aumentando en densidad y su capa endocárdica es especialmente gruesa en el lado derecho. En embriones de seis días de incubación, el septum interventricular llega a separar completamente los ventrículos a excepción del pequeño foramen interventricular en su porción superior. El desarrollo ulterior del tabique interventricular se encuentra íntimamente relacionado con el del septum aorto-pulmonar.

Las paredes ventriculares van haciéndose más gruesas conforme avanza la incubación. Desde el octavo día de incubación hasta el final, la pared del ventrículo izquierdo aumenta en su grosor desde 100 micras a casi 1.100 micras (ROMANOFF, 1960). La pared del ventrículo derecho presenta un grosor aproximado a la mitad del ventrículo izquierdo.

MANASEK (1968) afirma que el desarrollo miocárdico es muy precoz: en menos de 40 horas de incubación el mesodermo esplécnico precardiaco ha sufrido una reorganización a partir

de células relativamente indiferenciadas hacia otras que muestran un alto grado de especialización. Existe una gran cantidad de gelatina cardíaca extracelular interpuesta entre el endotelio y el miocardio. En estos embriones jóvenes, se ha comprobado que las células miocárdicas incorporan sulfato marcado y probablemente lo secretan a la gelatina cardíaca al igual que poseen un gran acúmulo de glucógeno como fuente de energía en la glicolisis anaerobia y que le hará resistente a la hipoxia en situaciones de stress.

El tabique interventricular se forma, pues, como consecuencia del crecimiento hacia abajo y afuera a cada lado del asa bulboventricular (McBRIDE Y COL, 1981). El relieve cada vez mayor de esta porción del tabique interventricular (pars muscular) va separando el esbozo de las porciones trabeculadas correspondientes a los ventrículos derecho e izquierdo.

También a nivel de bulbus y truncus pueden observarse unos engrosamientos que se fusionarán posteriormente para separar los infundíbulos de ambos ventrículos y la aorta y tronco de la arteria pulmonar respectivamente.

Para DE LA CRUZ Y COL (1972) estos engrosamientos o rodetes tronco-conales se desarrollan a lo largo del eje longitudinal del tronco-cono a partir de la separación entre cuarto y sexto arcos aórticos. Cuando se ha completado la septación, la arteria pulmonar conecta el sexto arco aórtico (en posición dorsal y a la izquierda) con la cámara de salida del ventrículo derecho (en posición ventral y a la derecha) y

la aorta, el cuarto arco aórtico (en posición ventral y a la derecha) con la cámara de salida del ventrículo izquierdo (dorsal y a la izquierda). Para los autores más arriba citados, estas relaciones espaciales son el resultado de una rotación espiral de  $180^\circ$  que experimenta el tabique troncoconal en el mismo sentido que las manillas del reloj.

Según DOR (1976) es la doble circulación la causa de las torsiones y septaciones en el polo arterial cardíaco cuando estudia el desarrollo normal y la creación de malformaciones experimentales en el corazón del embrión de pollo. Considerando el polo proximal del cono, la sangre venosa desemboca en la parte derecha del cono y la arterial en la parte izquierda. En el polo distal del cono, los quinto y sexto arcos aórticos son dorsales y van a constituir las arterias pulmonares. Los tercero y cuarto arcos aórticos son ventrales y forman las arterias carotídeas y arco aórtico. La cresta A (ventral), B (dorsal) del ostium proximal del cono y la cresta 1 (derecha), 3 (izquierda) del ostium distal adquieren un gran desarrollo. Las torsiones surgen para hacer llegar la sangre venosa del cono derecho a los arcos dorsales y la sangre arterial del cono izquierdo a los arcos ventrales, es decir, poner en línea la cresta A con la 1 y la B con la 3. Estas torsiones aparecen, con una amplitud de  $270^\circ$  en sentido antihorario, imponiéndose a las crestas para proporcionar un trayecto espiral. Para que la cresta A se encuentre con 1 y la B con 3, cada segmento se tuerce en sentido contrario.

La zona media del cono es, para DOR, el lugar de unión de crestas proximales y distales siguiendo el emplazamiento que le han dado las torsiones.

El apareamiento de las crestas es consecuencia de las torsiones. El apareamiento longitudinal se completa con otro transversal. El cono queda tabicado en dos rampas: venosa y arterial, describiendo cada una la rotación de 270° una alrededor de la otra.

PEXIEDER (1978) describe dos pares de rodetes bulbares en el embrión de pollo: proximales y distales. Los rodetes bulbares distales (rodetes o crestas truncales para otros autores) aparecen primero al tercer día de incubación y se orientan en un plano más o menos sagital. Entre el tercer día 16 horas y el cuarto día, se observan los rodetes bulbares proximales en un plano más o menos frontal. Entre el quinto día y el quinto día ocho horas el rodete bulbar proximal derecho se fusiona con el rodete bulbar distal ventral y el rodete bulbar proximal izquierdo se fusiona con el rodete bulbar distal dorsal. Para este autor las válvulas semilunares se desarrollan de la porción más distal de los rodetes bulbares distales y no de sus porciones proximales. El no cree que exista rotación a nivel bulbar, como piensan otros autores, sino que la cresta truncale dextrodorsal (rodete bulbar distal dorsal) se continua con el rodete conal (o bulbar) sinistroventral (rodete bulbar proximal izquierdo) y la cresta truncale sinistroventral lo hace con el rodete bulbar dextrodorsal (rodete bulbar proximal derecho). STEDING Y

SEIDL (1980) niegan, al igual que PEXIEDER, que existan procesos de rotación a nivel conal en el corazón del embrión de pollo.

Para PEXIEDER el truncus arteriosus presenta una estructura histológica similar a la de los vasos periféricos sin engrosamientos endocárdicos ni miocardio. La septación de esta porción del corazón embrionario es independiente de la septación bulbar.

Según LAANE (1978), la septación del polo arterial del corazón en el embrión de pollo se inicia en el mesénquima ventral al intestino. Aquí la luz del truncus se divide en una corriente aórtica cranealmente dirigida (hacia el tercer y cuarto pares de arcos aórticos) y una corriente pulmonar caudalmente dirigida (hacia el sexto par de arcos aórticos). El mesénquima entre los orígenes de ambas corrientes llega a acentuarse como "septum" aórtico-pulmonar en forma de cuña.

Durante el quinto día, la aorta, el tronco pulmonar y sus ramificaciones pasan de una posición retropericárdica a otra intrapericárdica. Al final del quinto día, el borde libre del septum aorto-pulmonar alcanza el truncus myocardialis. Los orígenes de las corrientes aórtica y pulmonar rotan desde una posición ventro-dorsal a otras posiciones derecho-ventral e izquierdo-dorsal respectivamente.

Durante la primera mitad del sexto día, el septum aorto-pulmonar crece hacia las crestas truncales distales en proceso de fusión. Durante la segunda mitad del sexto día, el proceso de fusión se extiende en sentido proximal.

Durante el séptimo día, la porción de salida ventricular izquierda queda separada de la derecha.

Siguiendo con la descripción que hace LAANE del polo arterial embrionario, la porción proximal del truncus myocardialis forma el infundíbulo del ventrículo derecho. Distal con respecto al truncus myocardialis se desarrollan las válvulas semilunares aórtica y pulmonar. Los orígenes de la aorta y arteria pulmonar rotan desde su posición derecha-ventral e izquierda-dorsal al final del quinto día a una posición casi dorsal y ventral respectivamente durante el sexto y séptimo días. El septum truncal entre las salidas ventriculares izquierda y derecha aparece como un tabique recto y no rota.

RYCHTER (1978), mediante técnicas de marcaje, afirma que el crecimiento del bulbus y truncus, que doblan su longitud entre el segundo y quinto días de incubación, no es a expensas del material procedente de los arcos aórticos y/o mesénquima adyacente de los arcos branquiales. En la segunda parte de su trabajo concluye que el mesénquima que se localiza en la base de la porción anterior de los sextos arcos aórticos, durante el tercer día de incubación, participará en la septación truncal. Para él, la contribución asimétrica de material a partir de los arcos derechos e izquierdos puede reflejar la dinámica de la rotación truncal durante este período de desarrollo.

Según THOMPSON Y FITZHARRIS (1979), en embriones de pollo entre 2,5 y 6 días pueden apreciarse dos fuentes principales



que darán lugar al mesénquima en el interior del truncus arteriosus. Por un lado procede de los arcos aórticos vecinos. Una segunda fuente procede del endocardio que invade el conus y truncus proximal en una dirección radial, coincidente con la expansión del bulbus cordis. En el estadio 26 H-H, el mesénquima de la región conotruncal se condensa para formar parte en el futuro de tres estructuras: válvulas semilunares, septum aórtico-pulmonar y túnica media de las grandes arterias.

Durante el estadio 29 (6-6,5 días) se produce la alineación de los elementos septales que participarán en el cierre definitivo de la comunicación interventricular. Según RYCHTER (1959) en embriones de seis días 16 horas de edad, la comunicación interventricular persiste sólo en un 25% de los casos con el diámetro de un cabello y sin repercusión hemodinámica. El cierre es completo a los siete días ocho horas.

Para DE LA CRUZ Y COL (1972) la desaparición de la "pestaña" conoventricular permite el desplazamiento del tronco-cono hacia la línea media y la alineación del septum tronco-conal con el primitivo septum interventricular. El ventrículo izquierdo adquiere una cámara de salida que le faltaba en estadios previos. El canal atrio-ventricular se ensancha hacia la derecha de tal forma que los cojinetes endocárdicos se alinean con el primitivo tabique interventricular. La aurícula derecha viene a conectar con el ventrículo derecho y éste adquiere su cámara de entrada.

Según PEXIEDER (1978) el establecimiento de la continuidad entre aorta y ventrículo izquierdo, así como la separación de aorta y arteria pulmonar se encuentran en relación con la absorción bulbar. Por el contrario, DE LA CRUZ Y DA ROCHA (1956) y STEADING Y SEIDL (1980) niegan que se produzca dicha absorción conal. En un trabajo posterior (1981), PEXIEDER Y CHRISTEN afirman que la absorción conal parece ser más una ilusión óptica e interpretativa que una realidad.

A lo largo del estadio 29, el proceso de septación es casi completo. Sólo persiste una pequeña comunicación interventricular que se cerrará de la siguiente forma según DE LA CRUZ Y COL (1972): por abajo el tabique interventricular, los cojinetes del canal atrio-ventricular en las regiones basal y dorsal, y el septum tronco-conal en las porciones basal y ventral. El cierre de esta comunicación tiene lugar a lo largo del estadio 32 como ya hemos señalado más arriba (aproximadamente 7,5 días de incubación).

El rodete dextro-dorsal del bulbus, además de contribuir a la formación del septum interventricular se expande hacia la pared libre del ventrículo derecho formando parte de la crista supraventricularis.

El área donde confluyen el septum interventricular primitivo, los cojinetes endocárdicos y los rodetes bulbares se denomina porción membranosa del septum interventricular y constituye el cierre definitivo de la comunicación interventricular secundaria que queda incorporada al tracto de salida del ventrículo izquierdo (PEXIEDER, 1978).

También dentro de este mismo estadio 29 pueden apreciarse los esbozos de las válvulas sigmoideas aórtica y pulmonar en el plano de separación entre bulbus y truncus. Para DE LA CRUZ Y COL (1977), la válvula semilunar pulmonar deriva de las paredes del truncus.

HURLE (1979) distingue tres períodos en la formación de las válvulas semilunares del embrión de pollo: 1) crecimiento de tres pares de crestas en el extremo proximal del truncus arteriosus, mediante la emigración y condensación de células mesenquimales que comienza en el estadio 26-27 terminando en el 29; 2) excavación de la porción distal de las cúspides que se produce entre el estadio 30 y 35; 3) maduración histológica a partir del estadio 36.

Los arcos aórticos en el embrión de pollo son seis arcos que conectan la aorta ventral con la dorsal. Los primeros cuatro arcos se encuentran en los correspondientes arcos viscerales; el quinto y sexto arcos se sitúan detrás del cuarto saco visceral; el quinto es muy pequeño y transitorio (HAMILTON, 1952; ROMANOFF, 1960).

La evolución de los arcos aórticos en el embrión de pollo es la siguiente: el primer y segundo arcos desaparecen al tercer-cuarto día de incubación y la prolongación anterior de la aorta dorsal en frente del tercer arco constituye la carótida interna; los extremos ventrales del primer y segundo arcos forman la carótida externa. El tercer arco, a cada lado, persiste como la porción proximal de las carótidas internas; y la aorta dorsal se interrumpe a cada lado entre

los extremos dorsales del tercer y cuarto arcos. El cuarto arco y la raíz de la aorta dorsal desaparecen en el lado izquierdo, pero permanece en el derecho como arco aórtico permanente. El quinto arco desaparece en ambos lados; el sexto arco persiste a lo largo del período de incubación y forma un importante canal arterial con la circulación sistémica hasta el nacimiento. Entonces la porción dorsal (ductus arteriosus) se cierra y el resto del sexto arco se convierte en porción proximal de las arterias pulmonares durante el cuarto día de incubación (HAMILTON, 1952).

De esta forma, al principio del quinto día se encuentran presentes todos los arcos aórticos y han desaparecido por completo el primero, segundo y quinto. Los arcos que permanecen son el tercero o arco carotídeo, el cuarto o arco aórtico y el sexto o arco pulmonar.

Durante el quinto y sexto días los dos lados del cuerpo embrionario empiezan a hacerse asimétricos. El cuarto arco comienza a reducirse en el lado izquierdo del cuerpo y se hace mayor en el derecho. La reducción del cuarto arco izquierdo parece deberse a causas mecánicas en relación con el desarrollo del cuello y la curvatura del corazón. Otro cambio importante es la reducción de la aorta dorsal entre los extremos superiores de los arcos carotídeo y aórtico que queda transformada en una estrecha conexión. Existen dos factores implicados en la desaparición gradual de esta parte de la aorta dorsal primitiva: elongación del cuello y reducción de la corriente sanguínea (HAMILTON, 1952).

Durante el octavo día de incubación se han completado los cambios citados anteriormente. Por el contrario, el extremo superior del arco pulmonar (ductus arteriosus) es una estructura tan desarrollada a ambos lados como para constituir el propio arco aórtico derecho. La arteria pulmonar tiene un calibre muy escaso y lleva una pequeña cantidad de sangre. Después del nacimiento, el ductus arteriosus comienza a ocluirse y se establece definitivamente la circulación pulmonar (HAMILTON, 1952).

La desaparición de unos arcos aórticos y la persistencia de otros constituye el resultado de las condiciones hemodinámicas y determina la influencia que ejerce la corriente sanguínea sobre la persistencia de los arcos aórticos definitivos (ROMANOFF, 1960).

Uno de los aspectos más importantes que se ha estudiado en los últimos años con respecto a la embriogénesis cardíaca es el del análisis de la muerte y proliferación celulares programadas que originan remodelaciones de estructuras embrionarias para formar otras definitivas. En este sentido, PEXIEDER (1978) piensa que la muerte y proliferación celulares son mecanismos morfogenéticos equivalentes.

La muerte celular a nivel del miocardio en el corazón de pollo embrionario es poco frecuente y no suele verse antes del cuarto día de desarrollo (MANASEK, 1969). El microscopio electrónico revela grandes cambios a nivel del núcleo y citoplasma de las células que van a morir mientras están rodeadas todavía por tejido normal. Tras la pérdida de

uniones intercelulares, las células en degeneración son expulsadas a los espacios intercelulares hacia el séptimo día de desarrollo. Pueden observarse miofibrillas rotas y grandes acúmulos de glucógeno en el citoplasma de estas células. Posteriormente son ingeridas por fagocitos.

En otro trabajo del mismo año, 1969, MANASEK describe el epicardio como un simple epitelio que cubre incompletamente la superficie miocárdica en embriones de pollo de tres días de desarrollo. Las células que componen el epicardio no contienen glucógeno ni miofibrillas, características de las células miocárdicas. Entre epicardio y miocardio aparecen células mesenquimales junto a fibroblastos y fagocitos. En ningún momento se observa que el epicardio proceda de células miocárdicas indiferenciadas por lo que el término "epimiocardio" es erróneo cuando se aplica al corazón en estadios precoces del desarrollo.

WEBSTER y GROSS (1970) analizan los probables mecanismos que dan lugar a la muerte celular programada en el embrión de pollo, utilizando drogas que rompen los puentes de unión del ácido desoxirribonucleico y que podrían superponerse al mecanismo natural de muerte celular tal como se observa en la zona necrótica posterior (unión posterior del lugar de salida del ala y cuerpo del embrión) y en los espacios interdigitales.

En 1972, PEXIEDER analiza los fenómenos de muerte celular en cuanto a su identificación, morfología y topografía a nivel del corazón embrionario y observa cómo se inician los procesos degenerativos en los rodetes bulbares sobre el cuarto-quinto

día de incubación, con la llegada de macrófagos a los rodetes al quinto día de incubación teñidos con azul Nilo sulfato y rojo neutro. Pueden apreciarse grandes cantidades de fosfatasa ácida. El estudio con microscopia electrónica confirma la actividad autofágica incrementada y la presencia de macrófagos. Conforme avanza la edad del embrión, las grandes figuras picnóticas se van haciendo poco frecuentes y prevalecen los gránulos finos de degeneración. Hasta el sexto día de incubación, las células en degeneración o muertas son lisadas in situ o fagocitadas por células mesenquimales vecinas. A partir del octavo día, pueden verse estas células concentradas alrededor de los vasos sanguíneos, en cavidades del corazón y en la luz de vasos sanguíneos. Con respecto a la topografía de estos fenómenos de muerte celular, PEXIEDER observa que el mayor número de células en degeneración se produce a nivel del bulbus y rodetes bulbares al cuarto día de incubación. El mayor número de focos diferentes de degeneración estaban presentes al sexto día de incubación. A partir del décimo día de incubación disminuyen el número de zonas y células en degeneración.

Ya hemos mencionado con anterioridad los trabajos de HAY y LOW (1972) y LOS y VAN EIJNTHOVEN (1973) en los que, durante el proceso de fusión de los cojinetes atrio-ventriculares, no se observan cambios celulares regresivos, sino actividad mitótica y posiblemente incluso transformación eritroblástica.

OJEDA y HURLE (1975) estudian los fenómenos de muerte celular durante la formación del corazón tubular en el embrión

de pollo entre los estadios 9 a 11 H-H. Observan células muertas y en degeneración localizadas, preferentemente, en la línea media de los tubos endocárdicos. No aprecian diferencias en la morfología de la muerte celular que aparece en este sistema con respecto a otros tejidos y órganos. Los fagocitos son poco numerosos lo que hace pensar a los autores que no son la causa de la muerte celular. Las células en degeneración y los restos celulares localizados en la gelatina cardíaca derivan de las células endocárdicas. La desintegración celular podría producirse en la gelatina cardíaca.

HURLE y OJEDA (1979) analizan la muerte celular en relación con el desarrollo del truncus y conus en el corazón del embrión de pollo, llegando a la conclusión de que las áreas necróticas se observan en la capa miocárdica del truncus y conus, a nivel de las células mesenquimales de las crestas tronco-conales y en el septum aorto-pulmonar. Estas zonas necróticas se observan por primera vez en los estadios 25-26 y alcanzan su máximo en los estadios 29-32 para ir desapareciendo posteriormente.

Otra línea muy interesante de investigación la constituye el estudio del papel que juega la fibronectina en la embriogénesis cardíaca, papel que parece estar en relación con los procesos de migración celular. La fibronectina es una glicoproteína de alto peso molecular. En el desarrollo precoz del corazón, la presencia de fibronectina se ha objetivado en la gelatina cardíaca en cantidades variables (ICARDO y



MANASEK, 1984). Se ha sugerido que pueda estar asociada con la migración de células endocárdicas primitivas y epicárdicas. Los cambios en la distribución de fibronectina ocurren asociados con el proceso de formación de los cojinetes a nivel tronco-conal.

SERVIN Y COL (1984) estudian la localización de la fibronectina durante el desarrollo del canal atrio-ventricular del embrión de pollo mediante técnicas inmunoenzimáticas. Observan que la fibronectina se encuentra localizada tanto en la superficie celular del endocardio como asociadas a las células mesenquimáticas y a la matriz extracelular de los cojinetes del canal atrio-ventricular. El hecho de que la máxima concentración de fibronectina en el interior de los cojines endocárdicos coincida con el momento en que se pierde la integridad del endotelio durante el proceso de fusión sugiere a los autores que el incremento de fibronectina asociada a los componentes extracelulares de los cojines del canal atrio-ventricular se debe al desprendimiento masivo de esta proteína de la superficie del endocardio. Las células del endocardio a nivel del canal atrio-ventricular pasan de estar en contacto con el flujo sanguíneo a perder dicho contacto cuando se fusionan los cojinetes endocárdicos; por lo tanto, en condiciones de oxigenación, la fibronectina promovería los contactos celulares y en ambientes más reductores la migración celular.

ICARDO (1985) analiza la distribución de la fibronectina durante la morfogénesis del truncus en corazones embrionarios

entre cuatro y diez días de incubación. Las células mesenquimales envueltas en la formación del septum aorto-pulmonar y de la túnica media arterial son intensamente fluorescentes para la fibronectina, lo que podría implicar su participación en la formación de ambas estructuras. El autor observa disminución en la intensidad de la fluorescencia cuando se ha completado la morfogénesis del truncus.

ASPECTOS ETIOPATOGENICOS DE LAS MALFORMACIONES  
CARDIACAS EN EL HOMBRE

ASPECTOS ETIOPATOGENICOS DE LAS MALFORMACIONES CARDIACAS  
EN EL HOMBRE.

Las anomalías congénitas del desarrollo del corazón y grandes vasos forman uno de los grupos más frecuentes y complejos de las malformaciones humanas.

BANKL (1977) encuentra 1.000 casos de cardiopatías congénitas entre 50.263 autopsias practicadas entre 1950 y 1974 en el Instituto de Patología-Anatomía de la Universidad de Viena . La frecuencia absoluta en esta serie es de 1,9%. Con respecto al sexo, un 57% corresponde a varones y un 43% a hembras. El 67% de los casos habían muerto en el primer año de vida incluyendo aquéllos que habían sido operados. De los pacientes no tratados o con tratamiento conservador, 79% murieron dentro del primer año de vida y 92% dentro de las dos primeras décadas. La mayor incidencia, según el tipo morfológico de la malformación, corresponde a la tetralogía de Fallot, transposición de grandes arterias y defecto septal ventricular con frecuencias de 16,7%, 15,7% y 11,3% respectivamente. Desdoblando los complejos malformativos en sus componentes, las mayores incidencias corresponden al ductus arteriosus persistente, comunicación interauricular, defecto septal ventricular, transposición de grandes arterias, tetralogía de Fallot, coartación aórtica y corazón izquierdo hipoplásico. La asociación de varias malformaciones cardíacas

formando complejos presentó una frecuencia del 64% y la asociación con malformaciones extracardíacas se encontró en 23% de los casos afectando al esqueleto, tracto urogenital, tracto intestinal y sistema nervioso central.

DANKMEIJER (1964) analiza 500 casos de malformaciones a lo largo de 15 años en el Laboratorio de Anatomía y Embriología de la Universidad de Leyden. Para este autor, el período completo de gestación puede considerarse como período teratogénico. El corazón es un órgano de desarrollo muy precoz por lo cual su embriogénesis puede verse alterada desde estos primeros momentos aunque las manifestaciones clínicas suelen presentarse tras el nacimiento, momento en el que se producen importantes cambios circulatorios.

Los datos más recientes de frecuencia de la enfermedad cardíaca congénita indican que entre la población infantil norteamericana, ésta asciende a 8 de cada 1.000 nacidos vivos, presentando 2-3 de ellos repercusión clínica en el primer año de vida (NELSON Y COL, 1983). Entre la población infantil española, CRUZ HERNANDEZ Y COL (1983) señalan una frecuencia de 7,5 de cada 1.000 nacidos vivos y de ellos 2,2 presentan gravedad. Estas cifras son suficientemente significativas de la importancia que presenta este grupo de malformaciones en el hombre.

CHUAQUI Y BERSCH (1972) analizan los períodos de determinación de las malformaciones cardíacas y reconocen tres fases fundamentales:

- 1) Fase TEMPRANA: Se extiende desde el horizonte IX de

STREETER (20 días) al XIII (28 días), es decir, desde que aparece la placa cardiogénica hasta que se forma el orificio sino-atrial. Comprendería malformaciones que van desde la ausencia de placa cardiogénica o falta total de fusión entre los tubos cardíacos -malformaciones desconocidas en el embrión humano- a otras tales como dextrocardia, cor biloculare o inversión ventricular.

2) Fase CRITICA: Se extiende desde el horizonte XIII (28 días) al XX (51 días). En esta fase se producen tres hechos fundamentales que podrían alterarse: conexión del canal auricular con la metampulla, rotación vectorial del bulbus y septación cardíaca.

3) Fase TARDIA: Se extiende desde el horizonte XX (51 días) al XXIII (57 días). En esta fase se han producido ya las transformaciones más importantes.

GRAY-SKANDALAKIS (1975) esquematiza las anomalías congénitas cardíacas haciendo referencia al momento de su producción. De esta forma, puede observarse una serie de malformaciones tempranas en su génesis como es la transposición corregida o la inversión parcial de los grandes vasos a finales de la tercera semana o antes y otras tardías como es la persistencia del foramen oval abierto tras el nacimiento. Repasando los diferentes tipos de malformaciones, llama la atención una frecuencia máxima de producción entre la quinta y séptima semanas de gestación.

JAFFEE (1979) coincide con otros autores al afirmar que la máxima frecuencia de malformaciones cardíacas se produce

durante el período de mayor desarrollo de este órgano: sexta-séptima semanas en el embrión humano, y algunas como la estenosis y atresia aórticas pueden ocurrir más tarde.

Para este autor, los períodos de máxima sensibilidad del sistema cardiovascular para los agentes teratogénicos depende del mecanismo de acción del agente, tiempo de actuación, su modo de transporte y probablemente rasgos específicos del metabolismo del embrión en un estadio determinado.

JAFFEE afirma que defectos similares pueden producirse por agentes teratogénicos diferentes y al contrario, como consecuencia de la acción no específica de la mayoría de estos agentes. Destaca la importancia de estos factores ambientales como es la hipoxia que produce cambios fisiológicos reversibles en el embrión pero que alteran la estructura cardíaca.

DE LA CRUZ Y COL (1971) estudian los factores extrínsecos en la génesis de las malformaciones cardíacas congénitas. Dentro de los factores etiológicos hay que considerar dos grupos: factores extrínsecos e intrínsecos que están íntimamente relacionados.

Los factores extrínsecos pueden ser físicos, químicos o biológicos y actúan sobre el genoma embrionario, sobre el citoplasma o sobre ambos, afectando las células que están en fase de diferenciación. Los más importantes son: virus (rubéola, coxsackie B), hipoxia, drogas y hormonas administradas a la madre y radiaciones.

Los factores intrínsecos son alteraciones aparentemente

espontáneas en el ácido desoxirribonucleico en el interior de los cromosomas del núcleo. Son factores de origen genético. Sus alteraciones pueden ser cuantitativas tales como la trisomía, traslocaciones o deleciones y cualitativas tales como la herencia dominante o recesiva, ligada a los autosomas o cromosomas sexuales y la herencia multifactorial.

En el mismo trabajo, DE LA CRUZ Y COL consideran cuatro procesos fundamentales que determinan el desarrollo de la forma, estructura y función de un órgano:

- 1) Movimientos morfogenéticos.
- 2) Inducción.
- 3) Crecimiento.
- 4) Degeneración.

Los movimientos morfogenéticos, crecimiento y degeneración son procesos que participan en la normal organogénesis cardíaca y se desconoce si son procesos inductivos. Las malformaciones cardíacas podrían deberse a alteraciones en los movimientos morfogenéticos, crecimiento o degeneración.

GARDNER (1981) establece una relación entre las malformaciones que afectan al sistema nervioso central y al corazón. Inmediatamente después que el tubo neural se cierra en la cuarta semana de desarrollo, las células endodermias inmaduras secretan un líquido proteináceo a mayor presión que el líquido amniótico, durante un intervalo de dos semanas hasta que se secreta líquido cefalorraquídeo. La distensión resultante colabora en la formación del cerebro, médula



espinal y vértebras. Si se produce una hipersecreción de este líquido, el tubo neural sufre una sobredistensión y permite la infiltración de dicho líquido en el mesodermo que resulta dañado por su alto contenido proteico. De esta forma pueden producirse anomalías cardíacas, pulmonares, gastrointestinales y génitourinarias. Es muy significativa la relación existente entre anomalías vertebrales y malformaciones cardíacas, hecho que confirmaría la teoría anterior.

NORA Y HART NORA (1984) analizan la contribución genética y ambiental en la producción de cardiopatías congénitas.

Con respecto a los factores genéticos, la mayoría de los casos no pueden explicarse por herencia mendeliana o aberraciones cromosómicas, sino que parece más consistente el mecanismo de la herencia multifactorial, en la cual subyace la interacción genética-ambiental. Aproximadamente un 3% de los pacientes presenta una base mendeliana que justifique su anomalía cardiovascular y un 5% trastornos cromosómicos variados. Las anomalías autosómicas conllevan un alto riesgo de malformaciones cardíacas, mientras que las anomalías del cromosoma X producen grados variables de riesgo. Finalmente, un porcentaje aproximado al 90% podría explicarse como predisposición genética sobre la que actúan influencias ambientales.

Dentro de los grupos familiares que presentan defecto septal ventricular, la frecuencia oscila entre 30 y 60%. Esta alta recurrencia familiar permanece todavía sin una explicación satisfactoria.

Analizamos a continuación los factores ambientales según NORA Y HART NORA (1984). Es precisamente sobre estos factores cómo mejor podemos actuar de forma preventiva ya que conocemos los períodos de máxima vulnerabilidad de las distintas estructuras cardíacas en desarrollo. Los límites varían de unos agentes teratogénicos a otros. Así, la talidomida tiene un margen de acción más estrecho que el virus de la rubéola. Pero también existen fenómenos como es el cierre del foramen interventricular hacia los 44 días de concepción que puede verse retrasado, sin significado patológico, dando lugar a un cierre espontáneo durante la infancia. Por el contrario, las malformaciones que afectan a la septación tronco-conal se han producido antes de los 34 días de concepción, momento en el que concluye dicho proceso de septación. De esta forma, el agente teratogénico puede actuar y producirse la malformación antes, incluso, de que la madre sepa que está embarazada.

Según NORA Y HART NORA existen otras lesiones como es la estenosis periférica de la arteria pulmonar (secundaria a rubéola) y estenosis aórtica (secundaria a la hiperlipoproteinemia homocigótica tipo IIa) que son lesiones estructurales que progresan tras el nacimiento. Ciertos agentes podrían actuar sobre válvulas atrio-ventriculares y semilunares, arterias pulmonares y sistémicas en trimestres posteriores de la vida intrauterina.

Dentro de los agentes potencialmente teratogénicos, existen drogas evitables y otras que no lo son. En el segundo grupo destacan los anticonvulsivantes, como es la hidantoína,

cuyo riesgo se aproxima a un 2-3% de malformaciones siendo las más frecuentes la estenosis pulmonar y aórtica, coartación aórtica y ductus arteriosus persistente. Estos autores han revisado la asociación entre el tratamiento de psicosis maniaco-depresivas con litio y la producción de malformaciones cardíacas, sobre todo, la de una entidad poco frecuente como es la anomalía de Ebstein.

Las sustancias evitables incluyen, entre otras, la ingesta de alcohol que se relaciona con defecto septal ventricular, ductus arteriosus persistente y defecto septal auricular además de otras características que constituyen el síndrome fetal completo por ingesta de alcohol. Con respecto a la ingesta de anfetaminas, la frecuencia de malformaciones fetales asciende a un 5-10% con defecto septal ventricular, defecto septal auricular, ductus arteriosus persistente, coartación aórtica y transposición de grandes arterias. En mujeres que han recibido hormonas sexuales (estrógenos, progesterona) durante su embarazo, se ha objetivado una incidencia 2,3 veces mayor de malformaciones cardíacas con respecto a las mujeres que no han recibido estos preparados. Se ha encontrado defecto septal ventricular, transposición de grandes arterias y tetralogía de Fallot (NORA Y HART NORA, 1984).

Con respecto a la patogenia de la enfermedad cardíaca congénita, STEDING Y SEIDL (1981;1984) reconocen una serie de aspectos que pueden verse alterados:

- 1.- Ausencia local de septación: ventana aorto-pulmonar,

defecto septal ventricular aislado.

2.- Falta en el desarrollo de un tabique: ventrículo único, truncus arteriosus común.

3.- El sistema de septación adquiere una disposición espacial anómala: transposiciones.

4.- Disposición espacial anómala e interrupción de la continuidad debido a que los extremos de un tabique no se fusionan: doble salida del ventrículo izquierdo.

5.- Disposición espacial anómala debido a la persistencia de estructuras septales que normalmente desaparecen: doble salida del ventrículo derecho.

Vamos a detenernos en el análisis de los defectos septales ventriculares tan relacionados con los resultados de nuestro trabajo y que expondremos posteriormente.

DE LA CRUZ Y COL analizan las comunicaciones interventriculares en las cardiopatías congénitas en un trabajo del año 1964. Para ellos los defectos septales interventriculares obedecen a uno de los tres factores siguientes:

a) Que falte alguna de las estructuras embriológicas (por ejemplo, los cojines del canal atrio-ventricular o el septum tronco-conal), de donde provienen los tejidos que van a constituir el tabique interventricular normal.

b) Que existiendo dichas estructuras embriológicas no estén alineadas con el tabique interventricular primitivo, lo que impediría que los tejidos que de ellas provienen puedan

completar el tabique interventricular primitivo.

c) Que a pesar de estar presentes y normalmente alineadas dichas estructuras, los tejidos que de ellas se originan sufran una detención en su crecimiento.

DE LA CRUZ Y COL reconocen dos grandes grupos de comunicaciones interventriculares atendiendo a los factores anteriores: en uno de ellos estarán incluidos los defectos septales que obedecen a los factores señalados en a) y b), que son las comunicaciones interventriculares que constituyen un componente obligado de ciertas cardiopatías congénitas complejas; por ejemplo, la tetralogía de Fallot, y en el otro los originados por el factor citado en c), que son las comunicaciones interventriculares que por sí solas constituyen una cardiopatía congénita. A éstas las llamamos comunicaciones interventriculares aisladas, mientras que a las primeras se las denomina comunicaciones interventriculares asociadas.

HOFFMAN Y RUDOLPH (1965) estudian 62 niños con este defecto entre 1960 y 1964. Encuentran una relación con respecto al sexo de 48% en varones y 52% en hembras. La incidencia por 1.000 nacidos vivos es de 0,95 para los recién nacidos a término y 4,51 para los prematuros, lo que se traduce por una incidencia global de 1,35 casos por 1.000 nacidos vivos.

GIROD Y COL (1966) analizan las malformaciones asociadas con defecto septal ventricular en 46 casos. Dichas malformaciones fueron clasificadas de la siguiente forma:

1) Anomalías posicionales y obstructivas de los grandes vasos: coartación aórtica, interrupción del arco aórtico, transposición corregida de las grandes arterias, origen de las dos arterias a partir del ventrículo derecho sin estenosis valvular pulmonar.

2) Shunts: comunicación ventrículo izquierdo-aurícula derecha, defecto septal atrial, ductus arterioso permeable.

3) Obstrucciones intracardíacas : estenosis subaórtica, musculatura anormal del ventrículo derecho.

4) Insuficiencia aórtica.

GOOR Y COL (1970) estudian 101 corazones con 112 defectos septales ventriculares. Estos autores clasifican el defecto septal según el lugar donde se produce, teniendo en cuenta que sólo 16 corazones mostraban el defecto septal ventricular como única anomalía. En los 85 restantes, se asociaban otros defectos.

La clasificación a la que hacíamos referencia es la siguiente:

1) Tipo INFUNDIBULAR (33 casos). Se afecta el septum conal.

2) Tipo MEMBRANOSO (17 casos). El defecto se localiza en la porción membranosa del septum ventricular.

3) Tipo ATRIO-VENTRICULAR (2 casos). En este tipo se afecta la porción atrio-ventricular del septum ventricular.

4) Tipo LISO o UNIFORME (56 casos). La malformación afecta al septum posterior liso.

5) Tipo TRABECULADO (4 casos). La zona donde asienta la

malformación es el septum posterior trabeculado.

El mismo grupo de trabajo formado por GOOR Y COL (1971) estudian 30 casos de tetralogía de Fallot y cuatro casos con complejo de Eisenmenger. El defecto septal ventricular que acompaña a la dextroposición de la aorta representa falta de alineación entre el septum ventricular y el septum conal distal. La dextroposición con obstrucción a la salida del flujo pulmonar se considera representativo de la tetralogía de Fallot y sin obstrucción como complejo de Eisenmenger. Los defectos septales a nivel infundibular son anomalías aisladas del septum infundibular sin dextroposición aórtica.

MOULAERT Y COL (1976) estudian 72 corazones con defecto septal ventricular en el Laboratorio de Anatomía y Embriología de la Universidad de Leyden. Encuentran tres tipos de defectos septales ventriculares: infundibular, canal atrio-ventricular y muscular, en asociación con anomalías aórticas (interrupción, atresia, hipoplasia tubular, hipoplasia, longitud anormal y coartación yuxtaductal). Estos autores añaden un cuarto tipo de defecto septal ventricular dentro del complejo de Eisenmenger con flujo pulmonar reducido.

WENINK Y COL (1979) examinan 79 corazones con defecto septal ventricular de forma aislada y, entre ellos, 29 correspondían a defectos de tipo muscular. Entre 60 corazones con transposición completa de grandes arterias y defecto septal ventricular, había 13 casos con defecto muscular. Los defectos musculares podían agruparse en tres tipos: defectos centrales y posteriores que suelen ser grandes y únicos y

defectos marginales que suelen ser pequeños y múltiples. En corazones con transposición, los defectos musculares centrales eran extremadamente raros, mientras que eran los más frecuentes en el defecto septal ventricular aislado. El tipo posterior fue el más frecuente en los casos de transposición. Los defectos musculares marginales fueron raros en ambos grupos de malformaciones.

SOTO Y COL (1980) estudian 220 corazones con defecto septal ventricular en un intento de proponer una clasificación de estos defectos con finalidad clínica. Distinguen septum membranáceo, muscular e infundibular subarterial. Dentro de los defectos del septum ventricular membranáceo, reconocen tres subcategorías: porción de entrada (55 casos), porción trabecular (56 casos) y porción infundibular (42 casos). Con respecto a los defectos del septum ventricular muscular se establecen otras tres subcategorías: porción posterior o de entrada (15 casos), porción trabecular (40 casos) y porción infundibular (3 casos). En su casuística, 12 casos corresponden al tercer grupo de defectos infundibulares subarteriales y tres casos a defectos mezclados. Los autores concluyen insistiendo en el interés de esta clasificación para la práctica de la cateterización y obtención de angiogramas, así como un significado quirúrgico considerable.

OPPENHEIMER-DEKKER (1981) analiza la arquitectura septal en corazones con defectos septales ventriculares. Así, en el truncus arteriosus persistente, es el septum infundibular el que falla en su desarrollo. Otras veces, como sucede en los



defectos septales infundibulares por defectuosa alineación, el septum infundibular no goza de sus conexiones normales por falta de desarrollo, en los estadios finales, del tracto de salida ventricular derecho e izquierdo. De esta forma, el septum infundibular busca otros puntos de unión hacia el ventrículo derecho o izquierdo. Otro de los defectos septales considerados es el que aparece en el complejo de Eisenmenger como consecuencia de un trastorno primario en el desarrollo del tracto de salida del ventrículo izquierdo. Por último, el defecto septal ventricular de tipo muscular es parte de un complejo malformativo que envuelve al pliegue bulboventricular primariamente.

WENINK (1981) estudia el tabique ventricular en corazones con un defecto atrio-ventricular. En estos casos se ve alterada la porción posterior del septum. El componente septal que es deficiente es el septum de entrada. Aunque el defecto de entrada pueda ser grande, no suele afectar al septum bulboventricular. Sin embargo, la anatomía del tracto de salida ventricular izquierdo sugiere anomalías coexistentes del pliegue bulboventricular.

BURROWS Y COL (1983) analizan nueve casos de defecto septal ventricular perimembráneo con shunt ventrículo izquierdo-aurícula derecha mediante cineangiografía. En presencia de un defecto septal perimembráneo, el shunt ventrículo izquierdo-aurícula derecha es el resultado usual de anomalías en la válvula tricúspide incluyendo grietas o perforaciones de la valva septal, deformidad o adherencia del

tejido de la válvula a los márgenes del defecto septal y aumento de la comisura ántero-septal.

DRTS-LLORCA Y PUERTA (1983) insisten en la presencia de esta comunicación entre aurícula derecha y ventrículo izquierdo que puede observarse normalmente en embriones de 21 mm y más, por encima del estadio en el que se fusionan normalmente los cojinetes endocárdicos (XIII a XVII; 5 a 11 mm). La persistencia de esta comunicación da lugar a una malformación denominada comunicación ventrículo izquierdo-aurícula derecha.

CONTE Y GRIECO (1984) estudian el cierre del foramen interventricular y la morfogénesis del septum membranáceo en relación con los defectos septales ventriculares. Para ellos, en la fase sistólica del ventrículo, parte de la sangre pasa de un ventrículo a otro por lo que se detiene el crecimiento de la cresta endocárdica a nivel de la porción membranácea del septum ventricular y esto originaría los defectos septales. La fusión de los bordes derechos de los cojinetes atrio-ventriculares puede detenerse por el flujo sanguíneo dando lugar a una comunicación entre aurícula derecha y ventrículo izquierdo.

Otro de los aspectos que nos interesa es la embriogénesis del ventrículo único en el embrión humano.

VAN PRAAGH Y COL (1964) distinguen varias designaciones que se han utilizado para el corazón univentricular: cor triloculare biatrium (septum atrial normal), cor biloculare

(septum atrial rudimentario o ausente), ventrículo único con cámara de salida rudimentaria y ventrículo único. Para estos autores, un ventrículo único o común es una única cámara ventricular, que contiene las válvulas tricúspide y mitral o una válvula atrioventricular común. Puede existir o no una cámara de salida. Cuando está presente dicha cámara, cualquier gran arteria o ambas pueden originarse a partir de la cámara de salida. El ventrículo y la cámara de salida se comunican a través de una apertura. Cuando no existe cámara de salida, las dos grandes arterias parten del propio ventrículo.

VAN PRAAGH Y COL estudian un total de 60 casos de ventrículo único, de los cuales 37 (62%) correspondían a varones y 23 (38%) a hembras. Por término medio, habían muerto a los 30,6 meses, con una edad media de 6,75 meses. Los hallazgos más relevantes son los siguientes:

1) Ausencia del seno ventricular derecho en 47 casos (78%) (tipo A).

2) Ausencia del seno ventricular izquierdo en tres casos (5%) (tipo B).

3) Desarrollo rudimentario o ausente del septum ventricular en cuatro casos (7%) (tipo C).

4) Ausencia de ambos senos ventriculares y septum ventricular en seis casos (10%) (tipo D).

Con respecto a las relaciones entre las grandes arterias pudo encontrarse: relación normal (solitus) en nueve casos (15%) designado tipo I: d-transposición, con válvula aórtica a la derecha con respecto a la válvula pulmonar en 25 casos (42%)

o tipo II; l-transposición, con válvula aórtica a la izquierda con respecto a la pulmonar en 26 casos (43%) o tipo III. En ninguno se encontró una relación inversa o tipo IV.

Se encontraron tres tipos de situs visceral-atrial: solitus, o normal, en 50 casos (83%); inversus, como imagen en espejo de la normal, en dos casos (3%); y heterotaxia, de forma que el situs visceral y atrial incierto se asocia con asplenia en ocho casos (13%).

RAHIMTOOLA Y COL (1966) estudian 43 pacientes entre mayo de 1960 y diciembre de 1964. De ellos 30 eran varones y 13 hembras (razón sexual: varón/hembra=2,3/1). Sus edades estaban comprendidas entre cinco semanas y 27 años, con una media de 7,6 años. El ventrículo único afectaba a 43 de los 1351 pacientes (3,2%) con enfermedad cardíaca congénita que fueron estudiados en la Clínica Mayo durante el período arriba citado y cuyo diagnóstico se practicó mediante angiocardiografía.

En este grupo de pacientes era muy común la presencia de lesiones asociadas con transposición de los grandes vasos en un 84% de ellos; levocardia aislada, dextrocardia aislada y dextrocardia en 16% de los casos; comunicación interatrial en 26%; estenosis pulmonar severa en 28%; incompetencia de la válvula atrioventricular derecha en 7%; coartación de aorta en 7% y ductus arteriosus persistente en 5%.

Para ANSELMY Y COL (1968), un ventrículo único es una malformación con una única cámara en la cual cada pared libre tiene las características correspondientes a las paredes ventriculares derecha e izquierda; el septum ventricular no

existe; puede apreciarse un infundíbulo y hay dos orificios atrio-ventriculares mitral y tricúspideo diferenciados. El factor fundamental afecto es un trastorno en el proceso de diferenciación celular localizado en la zona medial de los dos sacos que constituyen el septum interventricular primitivo. Las paredes libres de estos sacos se han desarrollado normalmente como lo demuestra el hecho de que las características de estas paredes corresponden a las de los ventrículos derecho e izquierdo. Cada aurícula comunica con esta cámara ventricular lo que indica que está presente el factor hemodinámico y cada saco está sujeto a un estímulo adecuado. Sin embargo, la porción medial, que normalmente forma el septum interventricular, no responde debido a la falta de diferenciación celular y de esta manera no puede continuar su desarrollo.

Estos autores analizan 17 casos de ventrículo único correspondientes al Departamento de Cardiología Pediátrica del Hospital Universitario de Caracas. De ellos, once eran varones y seis hembras y sus edades oscilaban entre cinco meses y 18 años. Estos autores, como otros citados anteriormente, encuentran defectos asociados: transposición de grandes arterias, truncus arteriosus común, inversión ventricular, etc.

DE LA CRUZ Y COL (1968) publican dos casos de doble entrada al ventrículo izquierdo en los cuales el ventrículo izquierdo morfológico contiene el orificio atrio-ventricular derecho, en su mayor parte o completamente, y el orificio

atrio-ventricular izquierdo. Embriológicamente, podría representar el desarrollo normal del canal atrio-ventricular entre los horizontes XIII y XVI de Streeter. El ventrículo izquierdo deriva del ventrículo primitivo y éste siempre se encuentra conectado con ambas aurículas durante los estadios precoces del desarrollo. Para estos autores, la doble entrada al ventrículo izquierdo debe constituir una entidad por sí, sin pertenecer al grupo de malformaciones que se engloba bajo la denominación ventrículo común o único.

LEV Y COL (1969) proponen su definición de ventrículo único (o primitivo) tras estudiar 56 corazones de los que 42 reunían las condiciones exigidas, entre los 2745 corazones con anomalías congénitas vistos durante diez años en la Universidad de Chicago. El ventrículo único es aquel en el que ambos orificios atrio-ventriculares se sitúan en un seno ventricular común, del que emergen los troncos arteriales.

Puede clasificarse de la siguiente forma: 1) Con transposición regular (no invertida) en levocardia.

2) Con transposición invertida en levocardia.

3) Posición de troncos arteriales normal en levocardia.

4) En dextrocardia.

5) En mesocardia.

Esta entidad, para LEV Y COL, debe diferenciarse del ventrículo común que es básicamente un corazón con un gran defecto septal ventricular. El ventrículo único no incluye la atresia mitral y tricuspídea por definición ni incluye el desplazamiento del orificio tricuspídeo, en la cual se

encuentran dos ventrículos diferentes. El concepto de ventrículo único difiere de la doble entrada al ventrículo izquierdo de DE LA CRUZ Y MILLER que incluye el desplazamiento del orificio tricuspídeo. Embriológicamente, en el ventrículo único se produce una persistencia de la primitiva asa bulboventricular, por falta de expansión del canal atrial a la derecha durante el proceso de absorción bulbar.

ANDERSON Y COL (1976) estudian cuatro casos de corazón univentricular y proponen que, bajo esta denominación, se defina el corazón al que falta el septum interventricular posterior. Estos corazones pueden tener o no cámara de salida, atresia de un orificio atrioventricular o desplazamiento de una válvula atrio-ventricular. Pueden coexistir con variaciones morfológicas de la aurícula y con todas las posibles conexiones ventrículo-arteriales. Correspondería al ventrículo primitivo.

DE LA CRUZ (1979) piensa que el corazón univentricular se debe a la ausencia del septum interventricular primitivo, pero no excluye la hipótesis de que ciertos tipos de corazón univentricular puedan originarse por el desarrollo exclusivo del bulbus cordis o el ventrículo primitivo.

Según VAN MIEROP (1979) el ventrículo común puede representar un gran defecto septal ventricular mientras que permanece dudosa la naturaleza de la forma indeterminada o inespecífica de corazón univentricular. El corazón univentricular, tipo ventrículo derecho, podría atribuirse al desplazamiento del canal atrio-ventricular a la derecha,

resultando que ambos orificios atrio-ventriculares entran en una gran cámara ventricular que tiene las características morfológicas de un ventrículo derecho. En el corazón univentricular, tipo ventrículo izquierdo, parece haber fallado o permanecer incompleto el desplazamiento hacia la derecha del canal atrio-ventricular, debido probablemente a una posición anormal del canal atrio-ventricular en relación con el septum bulboventricular. La septación normal del canal atrio-ventricular da lugar a que ambos orificios atrio-ventriculares den acceso a un gran ventrículo que suele tener los rasgos morfológicos de un ventrículo izquierdo.

RYCHTER Y COL (1979) piensan que la persistencia de una proliferación primitiva difusa es la condición para el desarrollo de un corazón univentricular en el que no se pone en marcha el mecanismo morfogenético formador del septum ventricular. El corazón pseudo-univentricular, es decir, el corazón con una gran cámara que se acompaña de una cavidad accesoria pequeña, es el resultado de una hipoplasia derecha o izquierda total o parcial en relación con el mecanismo morfogenético. La morfogénesis de la estructura y relieve de la pared cardíaca incluyendo las válvulas atrio-ventriculares y arteriales es una característica secundaria, dependiente en gran medida de las condiciones hemodinámicas cambiantes.

VAN PRAAGH Y COL (1979) estudian 31 casos de ventrículo único. Para ellos, hay dos tipos de ventrículo único: ventrículo único morfológicamente izquierdo y ventrículo único morfológicamente derecho. El ventrículo único tipo izquierdo



se encontró en 23 casos (74%) y el derecho en ocho casos (26%). En cinco de los ocho casos de ventrículo único tipo derecho se asoció asplenia. Otros hallazgos encontrados son: cámara de salida infundibular con ventrículo único tipo derecho; grandes arterias en relación normal en los ventrículos tipo derecho; atresia valvular aórtica e infundibular con transposición de grandes arterias en ventrículos tipo izquierdo; ventrículo tipo izquierdo con ausencia del foramen bulboventricular, etc. En el ventrículo único tipo izquierdo, el septum ventricular se encuentra desplazado y malformado, pero no ausente. El ventrículo primitivo o proampulla da lugar al ventrículo izquierdo durante la embriogénesis cardíaca. El corazón univentricular con una zona trabeculada de ventrículo izquierdo es un sinónimo de ventrículo único tipo izquierdo y lo mismo puede decirse para el lado derecho. El término de ventrículo primitivo no debe emplearse como diagnóstico anatómico en la enfermedad cardíaca congénita postnatal. Desde el punto de vista anatómico, el ventrículo único, la atresia y el desplazamiento de válvulas atrioventriculares deben considerarse separadamente.

ANDERSON Y COL (1979;1981) estudian la morfología ventricular en el corazón univentricular e identifican tres tipos:

- Corazones con una cámara principal de tipo ventrículo izquierdo y una cámara rudimentaria de tipo ventrículo derecho.
- Corazones con una cámara principal de tipo ventrículo

derecho y una cámara rudimentaria de tipo ventrículo izquierdo.

- Corazones con una única cámara en su masa ventricular de patrón indeterminado.

Los corazones pueden ser además de tipo derecho o izquierdo sin cámaras rudimentarias.

Las cámaras principales pueden dar salida a una o ambas grandes arterias (cámaras de salida) o no (sacos trabeculados). Las cámaras rudimentarias derechas suelen ser anteriores y las izquierdas posteriores, aunque pueden verse a la derecha o izquierda en los dos casos.

Estos corazones poseen las conexiones atrio-ventriculares dobles o puede darse la ausencia de una de ellas. En los ventrículos con doble entrada pueden apreciarse dos válvulas, una válvula común, una válvula imperforada y válvulas atrio-ventriculares desplazadas. También existen variaciones en las conexiones arteriales.

ANDERSON Y COL (1979;1981) insisten en que además de la morfología ventricular, hay otros datos que deben tenerse en cuenta al analizar el corazón univentricular: situs atrial, conexión atrio-ventricular, conexión arterial, relación interarterial y presencia de malformaciones asociadas.

Por último, vamos a analizar la génesis de malformaciones a nivel del tracto de salida arterial.

DE LA CRUZ Y DA ROCHA (1956) explican las malformaciones

tronco-conales más comunes como consecuencia de la alteración en el reborde cono-ventricular, rodetes tronco-conales y el primordio de las válvulas semilunares aórtica y pulmonar. Estas malformaciones más frecuentes son: truncus arteriosus común, complejo de Eisenmenger, tetralogía de Fallot, truncus aorticus solitarius, transposición de los grandes vasos y complejo de Taussig-Bing.

Con respecto al reborde cono-ventricular, las malformaciones pueden derivarse de su desaparición muy precoz o, por el contrario, tardía.

Los rodetes tronco-conales pueden verse alterados de cuatro formas fundamentales: falta completa de rotación del septum tronco-conal; rotación incompleta del septum tronco-conal; septación desigual del tronco-cono y defectos en el crecimiento de los rodetes tronco-conales.

El primordio de las válvulas semilunares puede alterarse por ausencia total o parcial de las valvas dando lugar a válvulas acúspides, monocúspides o bicúspides. Estas malformaciones también pueden obtenerse por fusión anómala de los bordes llegando, incluso, a una membrana imperforada o atresia valvular. Si el desarrollo es insuficiente, el resultado es el de válvulas hipoplásicas.

VAN PRAAGH R. Y VAN PRAAGH S. (1966) publican un caso de inversión ventricular aislada (sin transposición de las grandes arterias) y estudian 149 casos de transposición de grandes arterias comparando con corazones normales. Distinguen cuatro tipos anatómicos de cono distal: pulmonar,

aórtico, combinado (pulmonar y aórtico) y bilateralmente deficiente. El desarrollo de las porciones distales del cono (subpulmonar y subaórtico) determina:

- 1) Las relaciones entre las válvulas semilunares y atrioventriculares.
- 2) Entre grandes arterias y ventrículos.
- 3) Entre las válvulas semilunares.
- 4) Presencia o ausencia de estenosis infundibular distal.
- 5) Localizaciones relativas de los defectos septales ventriculares altos (subaórtico o subpulmonar).

Las transposiciones de grandes arterias ponen de manifiesto un miocardio conal subaórtico anormal. Esto altera la contigüidad normal entre las válvulas aórtica y mitral, dando lugar a relaciones anormales entre grandes arterias y ventrículos y entre las grandes arterias. Estos autores concluyen que la transposición de grandes arterias no presenta nunca continuidad fibrosa mitro-aórtica mientras que las arterias no transpuestas si la poseen.

Posteriormente, en 1972, GOOR Y EDWARDS publican el caso de una hembra de 23 meses de vida con cono aórtico persistente y falta de inversión del truncus. Normalmente, la relación definitiva entre aorta y arteria pulmonar queda establecida por el acortamiento del cono aórtico y la inversión del cono-tronco.

Para GOOR Y EDWARDS, este corazón muestra similitud con un corazón embrionario del horizonte XV. En este horizonte, el cono aórtico es casi tan largo como el ventrículo derecho,

y el truncus pulmonar se encuentra más cerca del canal atrio-ventricular que el truncus aórtico, tal como se observa en este caso. Por el contrario, la absorción conal y el desplazamiento hacia la izquierda del reborde cono-ventricular, que ocurre durante los horizontes XVI-XIX, no se produce en el corazón descrito. Además, el canal atrio-ventricular permanece tan abierto como suele verse en el horizonte XV.

Los mismos autores que ya hemos citado, GOOR Y EDWARDS, publican en 1973 una revisión de 165 casos de transposiciones variadas de grandes arterias. El material de esta revisión puede clasificarse de la siguiente manera:

- 1.- Transposición completa de las grandes arterias (92 casos).
- 2.- Doble salida del ventrículo derecho (26 casos).
- 3.- Transposición corregida de las grandes arterias (40 casos).
- 4.- Transposición con aorta posterior (seis casos).
- 5.- Doble salida del ventrículo derecho con l-transposición y curva a la derecha (d-loop) (un caso).

Para estos autores, el término "d-transposición" significa que la aorta está a la derecha de la arteria pulmonar (con respecto al septum ventricular), mientras que el término "l-transposición" implica que la aorta está a la izquierda de la arteria pulmonar. "D-loop" significa que el ventrículo derecho está en el lado derecho, como le corresponde, y "l-loop" indica que el ventrículo derecho

anatómico está en el lado izquierdo , es decir, invertido. El término "doble salida del ventrículo derecho" indica que una o las dos grandes arterias parten del ventrículo derecho y la otra gran arteria tiene su origen parcial o totalmente en el ventrículo derecho.

ANDERSON Y COL (1974) examinan una serie de corazones con malformaciones bulboventriculares, clasificados anteriormente como tetralogía de Fallot, doble salida del ventrículo derecho y formas variadas de transposición. El espectro de anomalías puede interpretarse directamente como variación en la posición de los componentes embrionarios del asa bulboventricular: reborde cono-ventricular, septum del cono, trabécula septo-marginal y segmentos anterior y posterior del septum ventricular muscular. Para estos autores hay una serie de hallazgos que podrían explicar la génesis de las malformaciones: rotación conal, absorción conal y reorientación de la porción anterior del septum muscular.

ANDERSON Y COL consideran que la continuidad o discontinuidad fibrosa mitro-aórtica es un buen criterio para diferenciar la tetralogía de Fallot de la doble salida del ventrículo derecho.

La transposición de grandes arterias sólo está presente cuando ambas arterias se sitúan sobre el septum para partir de ventrículos inapropiados. Cuando solamente una arteria se sitúa sobre el septum, o bien la arteria se relaciona incorrectamente con respecto a su ventrículo, se habla de malposición de las arterias.

ANGELINI Y LEACHMAN (1974) seleccionan 35 casos de defectos septales tronco-conales pertenecientes al Hospital Infantil de Texas, incluyendo comunicaciones entre troncos arteriales e infundíbulo. De los 35 corazones examinados, nueve presentaban fallo completo en la formación del septum truncal y conal y 26 tenían un septum truncal parcial en la porción distal.

Los autores piensan que la principal confusión en la clasificación e interpretación de los defectos septales tronco-conales deriva de la aplicación del mismo nombre (persistencia de un truncus arteriosus común) al grupo completo de estas malformaciones. Este término es erróneo porque: 1) sólo traduce la patología truncal y no la conal; 2) sugiere que estas malformaciones son la persistencia de un patrón embrionario precoz; 3) se refiere sólo a un grado extremo de este defecto.

Por tanto, para ANGELINI Y LEACHMAN, debe desaparecer el término "truncus común" como un término general y debe sustituirse por el de defectos septales tronco-conales que podrán ser parciales o completos, equivalente al término de defecto septal atrial o ventricular. El término "truncus común" equivaldría a la aurícula o ventrículo únicos desde este punto de vista.

OKAMOTO Y COL (1978) analizan la morfogénesis de las malformaciones bulboventriculares en el embrión humano y en la rata. A nivel de la región tronco-conal, la morfogénesis anormal deriva de anomalías en la incurvación cardíaca; en la

posición, volumen y longitud del truncus; rodetes bulbares y engrosamientos valvulares intercalados; y localización, intensidad y estadio de aparición y desaparición de los focos de muerte celular en el rodete bulbar.

Para OKAMOTO, la tetralogía de Fallot se produce por desviación anterior del rodete bulbar dextrodorsal con normalidad del rodete sinistroventral, desarrollo del engrosamiento valvular aórtico en la posición del rodete bulbar dextrodorsal que está desviado anteriormente; o por la asociación de comunicación entre el engrosamiento valvular aórtico y el cojinete endocárdico superior con el rodete bulbar dextrodorsal creciendo en el extremo distal del cono. El defecto septal ventricular es consecuencia de la hipoplasia del rodete bulbar, formación de la base del rodete bulbar dextrodorsal en el extremo distal del cono o su desviación anterior. Las anomalías en el tamaño y posición del truncus y engrosamientos valvulares es el origen de la anomalía valvular. La desviación anterior del rodete bulbar dextrodorsal es especialmente importante en el lado de la válvula pulmonar.

Según estos autores, la doble salida del ventrículo derecho sigue una morfogénesis similar a la tetralogía de Fallot, con la formación desviada de un foco de muerte celular en el lado de la válvula aórtica, sin comunicación entre el engrosamiento valvular aórtico y el cojinete endocárdico superior.

El mecanismo de desarrollo de la transposición completa



de las grandes arterias puede explicarse, según los resultados experimentales, por la relación invertida ántero-posterior del rodete tronco-conal.

Para MENINK (1978) la transposición de las grandes arterias no es meramente una malformación del tracto de salida cardíaco y, así, un gran número de casos muestra falta de correspondencia del proceso de septación en el ventrículo y canal atrio-ventricular. Las investigaciones microscópicas muestran un componente dorsal separado del septum ventricular. Una probable hipótesis es que esta estructura se aleje en aquellas anomalías en las que el septum pierde su relación normal con respecto al canal atrio-ventricular.

OPPENHEIMER-DEKKER (1978) analiza las comunicaciones interventriculares en las transposiciones arteriales observando una mayor frecuencia de transposiciones sin dicha comunicación. En los casos de transposiciones sin comunicación interventricular, el mecanismo patogenético se sitúa distal con respecto a los orificios arteriales.

Para este autor las anomalías macroscópicas y/o microscópicas que se encuentran en el septum membranáceo y región vecina del anillo fibroso podría ser la expresión morfológica de las alteraciones en el proceso de inserción de la raíz arterial (pulmonar) en el tracto de salida del ventrículo izquierdo.

MOORE Y HUTCHINS (1978) publican una serie de 12 casos de interrupción del arco aórtico, malformación congénita rara. Identifican cuatro categorías:

1) Relaciones normales en el tracto de salida con arteria pulmonar sobre un defecto septal ventricular de forma que recibe parte del flujo del ventrículo izquierdo y todo el procedente del ventrículo derecho, con disminución del flujo aórtico (siete casos).

2) Obstrucción de la válvula mitral con flujo disminuido en el corazón izquierdo (dos casos).

3) Doble entrada al ventrículo izquierdo y transposición de grandes arterias con origen aórtico a partir de una pequeña cámara conal anterior (dos casos).

4) Malformación truncal con gran aflujo sanguíneo hacia la división arterial pulmonar (un caso).

En cada uno de estos corazones, el patrón del tracto de salida y las malformaciones asociadas sugieren a los autores un flujo de sangre preferencial hacia los sextos arcos y una reducción hacia los cuartos arcos en el momento en que suelen desaparecer los componentes embrionarios arteriales. De esta forma, la interrupción del arco aórtico puede ser simplemente la desaparición de la conexión normalmente persistente entre los arcos aórticos cuarto y sexto como resultado de un desequilibrio en el flujo durante la cardiogénesis temprana.

Por último, ORTIS-LLORCA Y COL (1983) publican un caso de transposición típica completa en un embrión humano de 19 mm (estadio 20; 50 días aproximadamente). La aorta sale del ventrículo derecho, situada ventral y a la derecha del tronco de la pulmonar. Esta nace en el vestíbulo izquierdo por medio de dos raíces, la izquierda procedente del ventrículo

izquierdo, mayor que la derecha. La comparación con embriones humanos de parecido estadio demuestra que los vestíbulos o conos de las arterias no están transpuestos. La malformación es más distal, por encima de las válvulas sigmoideas y la conexión anormal puede haberse realizado, según piensan los autores, a través de la comunicación aórtico-pulmonar que puede ser muy amplia en embriones de 8 a 10 mm.

INFLUENCIA DEL FACTOR HEMODINAMICO EN LA SEPTACION

CARDIACA

INFLUENCIA DEL FACTOR HEMODINAMICO EN LA SEPTACION  
CARDIACA

El interés por descubrir los factores etiológicos y la patogenia de la enfermedad cardíaca congénita ha conducido al desarrollo de estudios descriptivos en el hombre, rata y pollo y, posteriormente, técnicas experimentales utilizando embriones de anfibio y pollo fundamentalmente. El análisis de la influencia del factor hemodinámico en los procesos de septación cardíaca ha sido discutido e interpretado de formas opuestas por algunos autores. Vamos a referirnos seguidamente al embrión de pollo que ha constituido nuestro modelo experimental.

La formación del asa cardíaca, como ya hemos visto, es una propiedad intrínseca y, por tanto, independiente y anterior al comienzo de la circulación. Posteriormente es la reestructuración del endocardio y de la gelatina cardíaca la que originará los procesos de septación cardíaca, siendo responsables los factores hemodinámicos de dicha reestructuración (ORTS-LLORCA Y RUANO GIL, 1967; MANASEK Y MONROE, 1972).

BREMER (1929, 1931/1932) estableció dos corrientes sanguíneas que entraban al corazón, todavía indiviso a las 48

horas de incubación, desde las venas vitelinas derecha e izquierda desarrollando espirales de forma que entre estas dos corrientes se desarrollan los cojinetes endocárdicos y los tabiques interventricular y bulbar. Este autor no atribuía la septación interatrial a las corrientes sanguíneas citadas. Por el contrario, JAFFEE (1963) describe el desarrollo del septum interatrial en corazones de rana moldeado por la influencia de las corrientes sanguíneas.

La circulación en el corazón del embrión de pollo comienza a las 40 horas de incubación y las venas vitelinas se fusionan en el hígado durante el tercer día (ROMANOFF, 1960). El vaso resultante unido al conducto de Cuvier derecho forman una gran corriente sanguínea derecha, mientras que la izquierda sólo está compuesta por el conducto de Cuvier izquierdo.

En estos momentos y, según JAFFEE (1963, 1965) la corriente derecha fluye paralela al eje longitudinal del embrión desde el seno venoso para situarse ventralmente en la aurícula y, posteriormente, en el lado derecho del canal atrio-ventricular y del bulbus. La corriente izquierda describe una espiral sobre la derecha a nivel del seno venoso, donde entra formando un ángulo casi recto con respecto a la derecha. Se dispone primero dorsal y después ventral y a la izquierda dentro de la aurícula izquierda, donde describe un amplio arco hacia la izquierda dirigiéndose caudalmente hacia el canal atrio-ventricular. En la porción izquierda del ventrículo, la corriente izquierda se dirige hacia arriba, más

a la derecha conforme más cranealmente se considere. El desarrollo del patrón espiral en el seno venoso es concomitante con un incremento en la dimensión lateral de esta cámara y con un desplazamiento de la aurícula izquierda a la izquierda.

El septum atrial es completo en el quinto día de incubación. El retorno venoso sistémico completo se realiza hacia la aurícula derecha, mientras que la aurícula izquierda recibe únicamente el pequeño retorno pulmonar. Es, en este momento, cuando se produce la perforación del septum interatrial y la expansión de la aurícula derecha. El flujo de sangre entre las aurículas es notable (JAFEE, 1965).

Dos corrientes separadas se observan en los ventrículos en el sexto día; es en este día cuando se completa el septum ventricular como puede comprobarse histológicamente. La septación en el bulbus es completa en el séptimo día (JAFEE, 1965).

Para JAFEE (1966), el desarrollo de las válvulas y tabiques cardíacos se produce a partir de tejidos altamente plásticos: la "gelatina cardíaca" y los "cojinetes endocárdicos". La septación -máxima entre el tercer y séptimo días de incubación- requiere la presencia de dos corrientes independientes. Dicha independencia queda determinada por una mínima velocidad de flujo. Según JAFEE, una discrepancia de presiones entre las corrientes sanguíneas parece ser la base hemodinámica para el desarrollo de defectos septales ventriculares.

En un trabajo posterior, 1967, JAFFEE considera que durante el tercer día de desarrollo embrionario, la corriente izquierda sale del bulbus introduciéndose principalmente en los arcos aórticos segundo y tercero. La corriente derecha sale en el bulbus en una situación posterior, introduciéndose en los arcos aórticos tercero y cuarto. Una cantidad decreciente fluye en el segundo arco si se compara con el cuarto y llega a desaparecer al final del tercer día (ROMANOFF, 1960).

El cambio posterior en la ruta del tracto de salida bulbar es un factor que colabora a la vascularización del sexto arco al comienzo del cuarto día. Un aumento de volumen sanguíneo dirigido a la corriente derecha en el cuarto día parece contribuir además al desarrollo del sexto arco (JAFFEE, 1965).

El quinto arco aórtico es pequeño y transitorio y se ha considerado rama del sexto.

El desarrollo del septum aorto-pulmonar se aprecia en el cuarto día de desarrollo (JAFFE, 1967). Las corrientes sanguíneas fluyen en los arcos aórticos, de forma que la corriente izquierda se introduce en el cuarto arco y la derecha en el sexto. El tercer arco pasa a ser rama del cuarto debido probablemente al modelado posterior del tracto bulbar en su totalidad.

JAFFEE (1978) afirma que la septación, tamaño de las cámaras cardíacas y posición de las grandes arterias son fenómenos morfológicos afectados por el flujo sanguíneo, de



tal forma que las anomalías de dicho flujo determinan la aparición de malformaciones cardíacas. Este autor, en 1979, afirma que cambios reversibles en el equilibrio hemodinámico producen malformaciones cardio-vasculares definitivas debidas al efecto de la hipoxia.

YOSHIDA Y COL (1983) practican microangiografía utilizando azul de metileno inyectado en la vena vitelina de 156 embriones de pollo de estadios comprendidos entre el 14 y 22 de H-H. Observan dos corrientes sanguíneas: una denominada tipo A a través de la porción dorsal del seno venoso, segmentos craneales de la aurícula primitiva y canal atrio-ventricular, porciones ventrales del ventrículo primitivo y conus cordis y arcos branquiales izquierdos. La denominada tipo B cursa por la porción ventral del seno venoso, segmentos caudales de la aurícula primitiva y canal atrio-ventricular, porciones dorsales del ventrículo primitivo y conus cordis y arcos branquiales derechos. Ambas corrientes fluyen en paralelo a nivel del conus cordis. En los estadios 17-18 de H-H, la corriente teñida desde la vena vitelina lateral derecha era tipo A, mientras que la procedente de la vena vitelina lateral izquierda era tipo B. En los estadios 19-22 de H-H, los patrones se invierten. La relación craneo-caudal de las dos corrientes en la aurícula primitiva y canal atrio-ventricular no es congruente con la hipótesis de que estas corrientes separadamente expanden las futuras aurículas derecha e izquierda. Su dirección paralela en el

conus cordis no confirma la teoria de que la septación espiral se inicie por dos corrientes espirales. La separación longitudinal de las dos corrientes en y detrás de los arcos branquiales es otro argumento en contra de la septación aórtico-pulmonar como consecuencia de la corriente sanguínea. Por lo tanto, estos autores no comparten la teoría tradicional de septación y moldeado de las cámaras cardíacas por efecto de las corrientes sanguíneas que han venido defendiendo BREMER y JAFFEE entre otros y piensan que el proceso de septación inicial es intrínseco o programado. De forma secundaria, el flujo sanguíneo puede alterar dicho proceso de septación. PEXIEDER (1969) mide la presión sanguínea en el tercer y cuarto arcos aórticos, mediante un micromanómetro, empleando embriones de pollo de tres y seis días de incubación observando que la presión sanguínea en los arcos aórticos aumenta en paralelo conforme aumenta el flujo sanguíneo a través del corazón durante el período considerado. Los valores más altos de presión sanguínea se alcanzaban en el cuarto arco derecho y tercer arco izquierdo. El valor de la presión sanguínea disminuye en el cuarto arco aórtico izquierdo, como corresponde con su regresión normal. Se producen al mismo tiempo la disminución de presión sanguínea y de calibre de dicho arco. Para PEXIEDER, la presión sanguínea es un factor determinante en la influencia morfogénica de las corrientes sanguíneas laminares, como comprueba además cuando introduce microclips interrumpiendo la circulación del sexto arco aórtico, experimento que comentaremos más adelante.

CLARK Y HU (1982) analizan los parámetros hemodinámicos de embriones de pollo de los estadios 18,21,24 y 27 de H-H (tres a cinco días de incubación) midiendo la velocidad de la sangre a través de la aorta dorsal y la presión sanguínea a través de la arteria vitelina principal. Miden, además, frecuencia cardíaca, diámetro de la aorta dorsal y peso del embrión en cada estadio de desarrollo. El flujo sanguíneo aumenta geométricamente con cada estadio embrionario pero permanece constante cuando se ha normalizado para el peso embrionario. La presión arterial aumenta linealmente y la resistencia vascular disminuye geométricamente. El trabajo cardíaco aumenta en proporción al peso embrionario.

CLARK (1984) analiza los aspectos funcionales del desarrollo cardíaco. Con respecto a la influencia del factor hemodinámico, piensa que no acaban de esclarecerse los mecanismos por los que el flujo sanguíneo intracardíaco influye sobre la septación cardíaca y crecimiento de las distintas cámaras. Para él existen algunas posibilidades: por un lado, la gelatina cardíaca, material extracelular de los cojinetes endocárdicos, puede deformarse por las corrientes sanguíneas al igual que otra sustancia plástica. Por otro lado, la localización e intensidad de los fenómenos de muerte y proliferación celulares pueden modularse por las fuerzas hemodinámicas.

Dentro de los parámetros hemodinámicos del corazón embrionario, CLARK (1984) analiza una serie de factores:

- Frecuencia cardíaca. El corazón del embrión de pollo

comienza a contraerse a las 36 horas de incubación. La frecuencia aumenta considerablemente durante los tres primeros días de incubación. Se produce un aumento lineal de la frecuencia entre el tercer y quinto días de incubación (estadios 18 a 27 de H-H). Posteriormente permanece relativamente constante entre los días 8 y 21 para volver a aumentar inmediatamente antes de la eclosión, como resultado de la inervación autonómica.

- Presión sanguínea. Se observan distintas presiones: sistólica y diastólica en embriones del estadio 18 de H-H. Esto indica que los cojinetes del tracto de salida tienen una acción valvular que mantiene una presión diastólica antes de que haya avanzado el proceso de septación, con un importante papel en la formación del miocardio.

- Gasto cardíaco. Ya hemos citado anteriormente haciendo referencia a otro trabajo de este autor, que existe un aumento progresivo en el flujo sanguíneo a través de la aorta dorsal conforme avanza el desarrollo. El flujo sanguíneo a través de la aorta dorsal permanece constante cuando se corrige para el peso embrionario. Esto sugiere que debe existir un factor de control metabólico para el gasto cardíaco más que un simple aumento en el volumen sanguíneo circulante.

- Resistencia vascular. Este factor se ha calculado a partir de la presión arterial y flujo sanguíneo a través de la aorta dorsal. Se observa una disminución progresiva de la resistencia vascular debido a un incremento en el calibre de la aorta, la resistencia añadida de nuevos vasos y el

desarrollo de una reactividad vascular en los vasos existentes.

PEXIEDER Y COL (1984) realizan un análisis morfométrico comparativo de la organogénesis cardíaca atendiendo a las relaciones de la porción bulboventricular entre si y con el tubo neural en embriones de pollo, rata y perro. Utilizan dibujos realizados con papel transparente ( $\times 2,8$ ) y fotografías ( $\times 3,94$ ) de los corazones sometidos a microdissección, empleando el eje del tubo neural como sistema de referencia. Las medidas se obtienen de un ordenador. Este estudio se destina a reconsiderar cualquier extrapolación a la embriología cardíaca humana. Estos autores indican que, en el embrión de pollo, el fenómeno más importante es el crecimiento del ventrículo derecho al tiempo que no evidencian desplazamiento del bulbus de derecha a izquierda. Observan un pequeño desplazamiento anterior del cono-truncus en embriones de pollo de dos-tres días de incubación.

A continuación, vamos a repasar una serie de trabajos dirigidos a analizar la influencia del factor hemodinámico en el proceso de septación cardíaca tomando como modelo el embrión de pollo. Es necesario elegir una raza que no presente cardiopatías congénitas de forma espontánea con valor significativo estadísticamente. Según DE LA CRUZ Y COL (1971) podría escogerse la raza Leghorn blanca que no muestra defectos septales ventriculares de forma espontánea mientras que si lo presentan la línea S de la raza Leghorn marrón (RYCHTER Y COL, 1960; RYCHTER Y LEMEZ, 1978). Un trabajo posterior (1984) de KUHLMAN Y KOLESARI ofrece resultados

contrarios pues ellos encuentran un 7,1% de malformaciones en el arco aórtico y defecto septal ventricular en 11,7% cuando estudian 196 embriones de pollo de raza Leghorn blanca.

BREMER es uno de los primeros autores preocupados del estudio del trayecto e influencia de las corrientes sanguíneas en el corazón en desarrollo. En un trabajo de 1927/1928 piensa que la regresión normal del cuarto arco aórtico izquierdo en el embrión de pollo es debido, sobre todo, a fuerzas mecánicas. Para este autor, la rotación de la porción aórtica del truncus en sentido contrario a las agujas del reloj, proporciona una posición desventajosa para el cuarto arco izquierdo mientras que el derecho se sitúa con el eje de la corriente sanguínea. El cuarto arco aórtico izquierdo, debilitado, acaba por sucumbir ante influencias de tipo secundario como es la presión en la porción superior de la cavidad pericárdica. Este arco persiste en el caso de hacerse discontinuo el tercer arco aórtico izquierdo, asumiendo así una función carotídea.

MURILLO FERROL Y GONZALEZ AMO (1965) obtienen corazones dobles mediante fisuración de la porta anterior con un gancho que consiste en una aguja de vidrio cuyo extremo termina en una pequeña bola, empleando embriones de pollo de estadios comprendidos entre el 7 y 9 de H-H (entre 23 y 33 horas de incubación). Más del 90% de los embriones intervenidos presenta cardias bífidas, además de retraso en el crecimiento y alteraciones del área vascular. Los corazones obtenidos están formados por dos tubos en los que se puede reconocer un

rudimentario surco atrio-ventricular aunque el proceso de tabicación no ha tenido lugar. Se consiguen resultados similares inyectando cloruro cálcico o versenato de sodio en la prolongación cefálica de embriones de pollo del estadio 5 de H-H.

GONZALEZ AMO (1973) estudia la producción de cardias bífidas en embriones de pollo mediante fisuración única, doble o triple de la porta anterior; hemiextirpación del encéfalo; inyección de cloruro cálcico; extirpación de entoblasto derecho; injerto de ento-mesoblasto cardiogénico, de área cardiogénica tridérmica o injerto homólogo de área cardíaca en receptor marcado en todos los casos con timidina tritiada. Tras la fisuración de la porta anterior se produce constantemente cardias bífidas. La fisuración múltiple produce vesículas contráctiles. En los embriones que alcanzaban una supervivencia suficiente (estadio 24), tanto la vesícula cardíaca derecha como la izquierda mostraron una diferenciación y torsiones típicas, apareciendo un solo atrio, un solo ventrículo y un tronco arterial. La estructura histológica de las cardias bífidas es la típica de un corazón normal. El autor concluye que para que se fusionen los esbozos cardíacos, es preciso que se formen la porta anterior y la faringe.

Otros autores han basado sus intervenciones en el polo arterial cardíaco. MANHOFF Y JOHNSON (1951) realizan electrocoagulación del sexto arco aórtico derecho en 41 embriones de pollo de tres días de edad obteniendo

malformaciones cardiovasculares en 16 de los 26 embriones supervivientes: estenosis de la arteria pulmonar derecha, ausencia de la arteria pulmonar derecha, ausencia del ductus arterioso derecho, doble arco aórtico, truncus arterioso común y defecto septal ventricular.

RYCHTER Y LEMEZ (1957) introducen microclips para interrumpir la circulación a través de los arcos aórticos: tercero derecho, sexto derecho, cuarto izquierdo y sexto izquierdo que desaparecen. El tercer arco aórtico izquierdo suprimido es sustituido por el cuarto arco aórtico izquierdo en la formación de la carótida izquierda. La supresión del cuarto arco aórtico derecho se acompaña de persistencia del tercer arco aórtico derecho, persistencia de ambos arcos aórticos tercero derecho e izquierdo o simplemente desaparición del cuarto arco aórtico derecho. Cuando se interrumpe el cuarto arco aórtico derecho, el tercer arco derecho suele ser el canal de sustitución para el arco aórtico. Pueden obtenerse cambios simultáneos de las arterias carótida, subclavia y pulmonar tras la ligadura de los correspondientes arcos aórticos.

RYCHTER Y LEMEZ (1958) obtienen defectos septales interventriculares por estenosis de la salida ventricular izquierda o derecha, mediante la eliminación de los arcos aórticos tercero, cuarto y sexto derecho e izquierdo en embriones de cuatro días de incubación. Como consecuencia de la supresión de los arcos aórticos citados, disminuye el diámetro del cono aórtico o pulmonar y se obtienen



malformaciones de las válvulas semilunares. En otro trabajo del mismo año, 1958, los autores eliminan la aurícula derecha o izquierda mediante microclips obteniendo estenosis o atresia del orificio atrio-ventricular correspondiente, hipoplasia del ventrículo, estenosis de la arteria correspondiente y, frecuentemente, defecto septal interventricular. La estenosis o atresia mitral puede estar causada por hipoplasia atrial, de forma que la acción hemodinámica de la aurícula condiciona la fusión de los cojinetes atrio-ventriculares.

RYCHTER Y LEMEZ (1960) consideran el papel teratogénico que puede desempeñar el trastorno local ocasionado por los microclips en aurícula o arco aórtico o la compresión de la pared del asa cardíaca o ambas. Los resultados, utilizando los diferentes modos de intervención, son superponibles.

RYCHTER (1962) coloca un clip de plata suprimiendo la circulación del cuarto o sexto arco aórtico al tercer o cuarto días de incubación y obtiene transposición de aorta al ventrículo derecho tras 48 horas de incubación. Otros defectos que encuentra son estenosis del orificio atrio-ventricular derecho, rodete anormal en la futura porción aórtica del bulbus cardíaco y agenesia del cuarto arco aórtico derecho.

GESSNER (1966,1978) y GESSNER Y VAN MIEROP (1970) introducen un gancho de Stephan en la región tronco-conal cardíaca con ascenso del corazón hacia delante y a la derecha, en embriones de pollo de los estadios 19 y 20 de H-H. El gancho se extraía a las 48 horas postintervención y se les

reincubaba hasta los 19-20 días de incubación. Las malformaciones obtenidas se pueden agrupar en cardíacas y del sistema arterial. En el primer grupo se podía observar ensanchamiento del tracto de salida del ventrículo izquierdo con y sin defecto septal ventricular, posición anormal de la aorta, origen de ambos vasos a partir del ventrículo derecho anatómico, doble entrada al ventrículo izquierdo. Dentro del segundo grupo de malformaciones destacan: ausencia del sexto arco aórtico izquierdo, atresia del cuarto arco aórtico derecho, persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo, ausencia de la arteria pulmonar derecha, interrupción completa del arco aórtico, etc.

PEXIEDER (1969) introduce microclips interrumpiendo la circulación a través del sexto arco aórtico en embriones de igual edad que el experimento de RYCHTER (1962) con lo que obtiene persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo. Este autor, en 1976, estudia las modificaciones de las células endocárdicas a nivel de los rodetes bulbares del corazón de pollo embrionario utilizando el microscopio electrónico de barrido tras proceder con la estenosis experimental de la arteria pulmonar. Esta estenosis era producida por la oclusión de ambos sextos arcos aórticos en el cuarto día de incubación por microclips de plata. Se observan defectos similares a cráteres pequeños en los rodetes bulbares proximal izquierdo y distal ventral. Aparecían espacios intercelulares en el rodete bulbar proximal izquierdo indicando aceleración del flujo sanguíneo en esta región. Se ha observado mayor

cantidad de fagocitos atravesando el endocardio que en los controles. Al parecer, el endocardio es relativamente resistente a los cambios hemodinámicos descritos. Estos cambios modifican el paso de fagocitos al interior de la corriente sanguínea así como los movimientos celulares y la exocitosis.

CLARK Y ROSENQUIST (1978) y CLARK Y COL (1984) introducen un hilo de sutura de diez ceros en embriones de pollo del estadio 21 de H-H a través de la curva más interna del asa cardíaca cerrando el cono-truncus a un diámetro de 0,4 mm. Se reincubaron hasta los estadios 36 y 43 de H-H. Obtienen anomalías del arco aórtico derecho (ausencia, interrupción e hipoplasia tubular), persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo y defectos septales ventriculares. El espectro de anomalías conseguidas sugiere a los autores que la constricción del asa cardíaca altera la distribución del flujo a los arcos aórticos embrionarios.

ARTEAGA Y COL (1982) obtienen experimentalmente doble salida del ventrículo derecho en el embrión de pollo impidiendo la incorporación del cono pósteromedial al ventrículo izquierdo mediante una ligadura alrededor del extremo caudal del cono.

Sobre el polo venoso del corazón en desarrollo, las intervenciones han sido más escasas. STEPHAN (1955) estudia las consecuencias de la supresión de la vena vitelina derecha en embriones de pollo de 27 a 32 horas de incubación. Los embriones muestran circulación normal. Las venas del lado

derecho van a la vena vitelina anterior y de aquí al lado izquierdo del embrión. Obtiene celosomías y ectopias cardíacas. La aurícula izquierda está más desarrollada que en condiciones normales. En un embrión del quinto día de incubación, la aurícula derecha está considerablemente disminuida y el septum interatrial se desarrolla normalmente en su cuerno ventral que alcanza el canal atrio-ventricular pero no así en su porción dorsal. El canal atrio-ventricular está ampliamente abierto. Se sitúa por encima del ventrículo izquierdo y el ventrículo derecho está reducido en sus dimensiones.

En 1959, ORTS-LLORCA Y COL realizan la ligadura de las venas vitelinas izquierdas en embriones de pollo del estadio 16 de H-H. Fijado el embrión a las 108 horas de incubación, es decir, unos cuatro días y medio, mostraban hipoplasia del telencéfalo izquierdo junto con una gran microftalmía izquierda. En estos embriones se presentan malformaciones cardíacas que afectan al polo arterial del corazón, existiendo anomalías de la tabicación ventricular compatibles con un ventrículo único (ORTS-LLORCA Y COL, 1980). Es también apreciable la falta de formación de los rodetes bulbares y truncales dando origen a un tronco arterial único de salida. Pueden visualizarse los cojinetes atrio-ventriculares no soldados por completo entre sí y dos orificios atrio-ventriculares.

MURILLO FERROL (1965) procede a la ligadura de la vena vitelina derecha en embriones de pollo de estadios 14 a 17 de

H-H utilizando el gancho descrito por Stephan. La ligadura de los vasos vitelinos derechos va seguida con menos frecuencia de alteraciones oculares, y en general encefálicas, que la ligadura de los vasos vitelinos izquierdos. Las anomalías obtenidas recaen con mayor frecuencia sobre el lado izquierdo. En 50 embriones en los que se ligaron los vasos vitelinos derechos se obtuvieron tres casos de macroftalmía izquierda, en relación probable con un aumento de la presión venosa intraembrionaria o también por activación trófica.

JAFFEE (1965) cauteriza el área lateral embrionaria en embriones de 36 horas de incubación observando que los vasos vitelinos se desvían alrededor del área cauterizada de tal forma que estos vasos entraban al embrión en ángulos anormales. Los cambios en los patrones de flujo de los corazones fueron vistos a las 60 horas después de tal tratamiento, y se formó gelatina cardíaca anómala en montículos. Si los embriones eran tratados similarmente y se esperaba su desarrollo de cuatro a seis días, se obtenían cojinetes endocárdicos anormales. La sutura de venas vitelinas anterior o posterior producía resultados similares y se pudo encontrar defecto septal ventricular y tabicación bulbar incompleta.

En el mismo trabajo, JAFFEE aplica azul tripán disuelto al 0,1%, en cantidades que oscilan entre 0,1 y 0,35 ml a embriones de pollo entre 32 y 57 horas de incubación, observando que dicha aplicación fue seguida de inhibición del desarrollo del tercer y cuarto arcos aórticos de forma que los

vasos afectados se caracterizan por luz más reducida y trayecto tortuoso. Se observa un flujo interventricular de ventrículo izquierdo a ventrículo derecho, a nivel de la porción membranosa, flujo que jamás se ha observado en corazones normales en este momento (5,5 días) incluso aunque el septum no se encuentre completo.

CLARK (1969) analiza la influencia de las alteraciones del flujo de entrada sobre la morfogénesis del corazón de pollo comprimiendo el conducto de Cuvier con microclips de alambre. Entre los estadios 20 y 24, la reducción unilateral del flujo de entrada da lugar a alteraciones morfológicas significativas de los patrones normales. La reducción de la corriente de entrada derecha origina disminución en el tamaño de la aurícula derecha, del ventrículo derecho y de la trabeculización del ventrículo derecho. En el tracto de salida se observa dextrorrotación aórtica junto a una disminución significativa de la luz de la arteria pulmonar. Cambios similares se observan tras la reducción del flujo de entrada al lado izquierdo del corazón. Cuando se practica reducción bilateral de los flujos de entrada, no se observan diferencias con respecto a embriones controles. La reducción unilateral de los flujos de entrada en embriones mayores que el estadio 24 no muestran resultados valorables. El autor interpreta los resultados de la siguiente forma:

- 1) Después del estadio 24, las corrientes espirales tienen poco o ningún efecto sobre el desarrollo normal del corazón.
- 2) No tiene tanto valor la influencia del volumen

presión de las corrientes sanguíneas separadamente sino el equilibrio de estos factores como determinante del desarrollo cardíaco normal.

ROHR Y VAUPEL (1975) ligan la vena onfalomesentérica derecha de embriones de pollo de estadios 18 a 24 de H-H con un hilo quirúrgico de nylon de diez ceros. Se reincubaron hasta el estadio 36. Un embrión presentaba ectopia cordis sin ninguna otra malformación cardíaca. Cinco embriones mostraban defecto septal ventricular con marcada dextroposición de la aorta. Otros embriones presentaban disminución en el desarrollo de la aurícula derecha, perforaciones anormales del septum interatrial y disminución en el grosor y trabeculaciones del miocardio ventricular derecho.

Por último, otros autores han actuado en sus intervenciones sobre el corazón directamente. Así, HARRH Y COL (1973) introducen un hilo de nylon de 90 $\mu$  de diámetro en la región del canal atrio-ventricular izquierdo en 192 embriones de estadios 23 a 25 de H-H. De ellos, 26 embriones mostraban varias malformaciones: aurícula y ventrículo izquierdo hipoplásicos, atresia valvular mitral, estenosis valvular aórtica e hipoplasia tubular de la aorta y vasos braquiocefálicos. Estos hallazgos enfatizan el probable papel morfogénético de las corrientes sanguíneas. De esta forma, las alteraciones hemodinámicas en el lugar del primordio de la válvula mitral pueden inducir malformaciones que simulan los hallazgos clínicos del síndrome de corazón izquierdo hipoplásico.

DOR Y COL (1978) y DOR Y CORONE (1979) colocan un trocito de membrana de 1x5 mm o un anillo metálico en la unión aurículo-ventrículo-conal, en la cara dorsal del cono o en el borde derecho del cono en embriones de pollo durante el tercer día de incubación. Tras seis-siete días de reincubación observan que el canal atrio-ventricular no emigra hacia la derecha sino que el anillo interampular (surco bulboventricular) emigra hacia la izquierda y cuando no se produce dicha emigración obtienen diversos tipos de ventrículo único.

DOMENECH Y REIG (1980) introducen una hebra finísima de nylon de 90 $\mu$  de grosor en el ángulo aurículo-ventrículo-conal con lo que obtienen comunicación interventricular con o sin doble salida del ventrículo derecho.

Recientemente, KIRBY y su grupo de trabajo (1983) encuentran una íntima relación entre las células de la cresta neural y la septación aorto-pulmonar. Han observado que las células de la cresta neural a nivel de los somitos occipitales 1 a 3 migran a la región del septum aorto-pulmonar. La resección bilateral de la población celular de la cresta neural a la que hemos hecho mención, con anterioridad a la migración, causa malformaciones del septum aorto-pulmonar dando lugar a truncus arterioso común o transposición de grandes arterias. El porcentaje de corazones malformados alcanza el 94% de los embriones de pollo intervenidos.

En un trabajo posterior (1985), KIRBY Y COL concluyen, de experimentos análogos, que los grandes defectos septales



ventriculares y las formas variadas de truncus arterioso común se encuentran en relación con la lesión efectuada a la cresta neural premigratoria entre la placoda ótica y los somitos 4-6.

Esta misma autora, en otro trabajo de 1985, realiza el mismo experimento y estudia histológicamente los embriones a los quince días de incubación encontrando malformación o ausencia de septación cono-truncal en todos los embriones. Observa, además, que hay dos picos de mortalidad embrionaria: uno a los seis-ocho días de incubación, en el mismo momento en el que debe concluir la septación cono-truncal y otro, a los once-trece días de incubación, coincidiendo con el inicio de la inervación parasimpática funcional. Comprueban la interrupción de la inervación parasimpática por:

- 1) disminución en la tinción para la acetilcolinesterasa;
- 2) disminución (27%) en el número de células ganglionares en el cono-truncus;
- 3) disminución en el contenido de acetilcolina de la aurícula (31%) y ventrículo (39%);
- 4) disminución (21%) en la densidad de receptores muscarínicos para la acetilcolina en el décimoquinto día de incubación. Las razones para explicar la limitada lesión parasimpática permanecen sin aclarar pero podría afectar al reclutamiento de células precursoras desde otras regiones de la cresta neural, regeneración parcial de la cresta neural tras la resección quirúrgica, o constituir una alteración en la contribución de los elementos de entrada simpáticos o pregangliónicos parasimpáticos.

Otros autores han sometido al embrión a factores potencialmente teratogénicos físicos y químicos estudiando el papel malformativo que estos agentes puedan ejercer sobre el desarrollo cardíaco.

GRABOWSKI Y PAAR (1958) estudian los efectos de la hipoxia sobre el embrión de pollo y someten a 954 embriones a dosis graduales de hipoxia durante un período de seis horas, utilizando embriones de edades comprendidas entre 18 horas y nueve días. Para los embriones de una edad determinada, podían establecerse tres rangos diferentes conforme se reducía progresivamente la concentración de oxígeno:

- a) Rango latente en el que no se obtenían efectos;
- b) Rango teratogénico con un significativo porcentaje de malformaciones;
- c) Rango letal en el que predominaban los efectos letales.

Se detectó una considerable variedad de anomalías en embriones sometidos a una concentración de oxígeno inferior al 60% del valor normal mientras que no se obtenían dichas anomalías cuando la concentración de oxígeno se encontraba entre 70 y 100% del valor normal. Las anomalías oscilaban entre pequeños defectos al hallazgo de verdaderos monstruos. Conforme se aumentaba la deficiencia en oxígeno, se observaban más embriones con anomalías, más anomalías por embrión afecto, más anomalías severas, mayor índice de mortalidad. Las

malformaciones afectaban al sistema nervioso central y ojo con mayor frecuencia, encontrando también anomalías a nivel de corazón y grandes vasos. Describen un embrión con ventrículo izquierdo hipoplásico de forma que la aorta y arteria pulmonar salían del ventrículo derecho. Para los autores, la hipoxia actúa como agente teratogénico efectivo y no específico sobre el embrión de pollo.

JAFFEE (1976) somete a embriones de pollo de estadios comprendidos entre el 11 y 17 de H-H a hipoxia moderada y a hipoxia e hipercapnia, observando cambios anatómicos y fisiológicos que incluyen la distorsión de los tubos cardíacos y gelatina cardíaca, pérdida de los patrones de flujo sanguíneo, bradicardia e irregularidad en los latidos cardíacos. Entre el 70% de los embriones supervivientes (24 horas más tarde), 25% desarrollaron anomalías en los tubos cardíacos y patrones de flujo sanguíneo. Tras cinco días de incubación, pudo observarse defecto septal ventricular y doble salida del ventrículo derecho.

Otro de los factores físicos implicados en la génesis de malformaciones cardíacas es el cambio de temperatura. DE LA CRUZ Y COL (1966) someten embriones de pollo a cambios de temperatura para estudiar la relación con malformaciones cardíacas. La elevación de temperatura de 37,65°C, en el grupo control, a 39,44°C daba lugar a una alta mortalidad y a malformaciones en los ojos y sistema nervioso central, así como torsión anormal del eje embrionario. Sin embargo, no se encontraron malformaciones cardíacas. La disminución de

temperatura a 35,83°C producía una alta mortalidad y, muy frecuentemente, defectos septales ventriculares. Los autores piensan que la disminución de la temperatura puede producir retraso en los fenómenos de crecimiento que normalmente acontecen en el cierre de la porción basal del septum interventricular. Al comparar estos resultados con los obtenidos experimentalmente por el virus de la influenza A y el de la enfermedad de Newcastle, resultados que son similares, los autores concluyen que diferentes agentes teratogénicos, actuando en el mismo estadio de desarrollo, pueden dar lugar a patrones similares de malformación.

GILANI Y JAFFEE (1971) estudian los efectos de la radiación X e hipotermia sobre el desarrollo cardiovascular en embriones de pollo. Las anomalías obtenidas son: estenosis aórtica, truncus arterioso común, defectos septales auriculares y ventriculares, válvulas sigmoideas anómalas, hipoplasia de la pared ventricular e inhibición de desarrollo del arco aórtico. La estenosis aórtica fue el hallazgo más frecuente con dosis bajas de radiación mientras que el truncus arterioso común fue el hallazgo más común al utilizar dosis altas de radiación. La exposición de los embriones a hipotermia antes de la radiación tenía un efecto cuestionable sobre la radiosensibilidad de los embriones (determinada por la dosis letal 50) o sobre el daño de la radiación en el corazón en desarrollo (determinado por la incidencia de defectos cardíacos). La exposición a frío después de la radiación parecía exagerar sus efectos presumiblemente por

inhibición de los procesos reparativos, como se pudo comprobar por una mayor sensibilidad e incidencia de malformaciones cardíacas obtenidas.

WISPE Y COL (1983) estudian la influencia de la hipotermia sobre parámetros fisiológicos. Miden el flujo a través de la aorta dorsal con un sistema Doppler en embriones de pollo de los estadios 18, 21 y 24 de H-H y calculan el volumen-latido dividiendo el volumen total por minuto entre el número de latidos en un minuto. Estos parámetros se midieron en situación basal, a 34,7°C, tras enfriar a 31,1°C y después de reincubar a 34,2°C. Cuando procedían a disminuir la temperatura, observaban disminución de la frecuencia cardíaca y del volumen total, no afectándose el volumen-latido. Los resultados eran similares en cualquiera de los tres estadios seleccionados. Para estos autores, la bradicardia es independiente de la inervación funcional autónoma y depende del miocardio. La función de la célula miocárdica no debe alterarse, pues no se afecta el volumen-latido y todos los parámetros estudiados revierten a sus valores normales cuando se reincuban los embriones. La hipotermia es un riesgo frecuente para el embrión de pollo puesto que la gallina abandona la incubación para buscar comida y agua. La bradicardia parece ser un mecanismo de protección para compensar las fluctuaciones de temperatura y puede constituir el ejemplo filogenético de la bradicardia observada en mamíferos expuestos a hipotermia experimental.

Para finalizar, vamos a reseñar algunos trabajos realizados recientemente y que analizan el papel de determinadas drogas sobre el desarrollo cardio-vascular en el embrión de pollo.

GILANI Y SILVESTRI (1977) estudian el efecto teratogénico del propranolol sobre el desarrollo cardíaco en embriones de pollo de tres y cuatro días de incubación. Se les inyectó propranolol en el saco vitelino a una dosis entre 0,05 y 0,6 mg por huevo. Los embriones se analizaron en el séptimo día encontrando estenosis aórtica, defectos septales ventriculares, truncus arterioso común, defectos septales auriculares, hipoplasia de la pared auricular y defectos en las válvulas atrio-ventriculares y sigmoideas. Se ha observado que el propranolol enlentece experimentalmente la frecuencia cardíaca en el embrión de pollo. Los autores sugieren que dicho enlentecimiento de la frecuencia cardíaca en estadios precoces del desarrollo de este órgano origina anomalías en los patrones de flujo sanguíneo determinando la aparición de malformaciones cardíacas.

Se ha venido insistiendo en que la activación de receptores  $\beta$ 1-adrenérgicos está directamente relacionada con malformaciones que afectan al corazón y grandes vasos del embrión de pollo. Se piensa que estos receptores adrenérgicos están presentes y son funcionales en el corazón embrionario innervado y no innervado en estadios precoces del desarrollo.

GILBERT Y COL (1980) administran  $7,5 \times 10^{-4}$  M de isoproterenol a embriones de pollo de estadios 24 a 26 de H-H observando una disminución del gasto cardíaco con respecto al mismo embrión antes de dicha administración o con respecto a embriones controles. El estudio se realiza mediante microcinematografía. El isoproterenol, una amina simpaticomimética, induce asistolias y disminución de la frecuencia cardíaca por espacio de una - dos horas. Estos efectos se contrarrestan si a estos embriones se les administra practolol, un antagonista de los receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos. Tras la administración de isoproterenol se ha observado también una disminución en la presión venosa de la circulación vitelina. De esta forma, la disminución del gasto cardíaco, de la frecuencia cardíaca y de la presión venosa vitelina podrían explicar la producción de malformaciones cardíacas.

KUHLMANN Y COL (1983) estudian los efectos de cuatro aminas simpaticomiméticas cardioactivas sobre el desarrollo cardiovascular del embrión de pollo en el estadio 24 de H-H. Estas aminas, en orden decreciente de actividad teratogénica, son: dopamina (dosis= $10,3 \times 10^{-6}$  moles/5 $\mu$ l); isoproterenol (dosis= $7,0 \times 10^{-6}$  moles/5 $\mu$ l); epinefrina (dosis= $2,2 \times 10^{-6}$  moles/5 $\mu$ l) y norepinefrina (dosis= $3,61 \times 10^{-6}$  moles/5 $\mu$ l). Las anomalías más frecuentemente obtenidas son alteraciones de los arcos aórticos tercero, cuarto y sexto así como defectos septales ventriculares. Si estos embriones eran tratados previamente con tartrato de metoprolol, se reducía la

incidencia de malformaciones. Los autores afirman que, tanto la dopamina como las demás aminas simpaticomiméticas producen malformaciones cardiovasculares estimulando primariamente los receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos en el embrión de pollo.

CLARK (1984) analiza el control hemodinámico del sistema cardiovascular del embrión de pollo y estudia los efectos del isoproterenol y de la cafeína sobre dicho sistema. La administración de dosis progresivamente mayores de isoproterenol ( $2 \times 10^{-4} \mu\text{g}$  a  $12 \times 10^{-4} \mu\text{g}$ ) no alteraban la frecuencia cardíaca ni la presión en la arteria vitelina principal pero si el flujo a través de la aorta dorsal, con disminución del gasto cardíaco y aumento de la resistencia vascular. El propanolol no ejerce efecto sobre la función cardiovascular si se administra sólo, pero bloquea el efecto del isoproterenol sobre el flujo a través de la aorta dorsal. De esta forma, el isoproterenol actúa a través de un receptor  $\beta$ .

En el mismo trabajo, CLARK estudia los efectos de la administración intravenosa de dosis progresivamente mayores de cafeína ( $12 \times 10^{-6} \text{mg}$  a  $12 \times 10^{-3} \text{mg}$ ) en embriones de pollo del estadio 24 de H-H. A los 2,5 minutos tras la inyección, puede observarse un incremento significativo del volumen-latido en comparación con los embriones control. Este incremento se produce por los efectos de la cafeína sobre la resistencia vascular (que disminuye) y sobre la contractilidad miocárdica (que aumenta).

RAJALA y su grupo de trabajo publican, en 1984, los resultados de administrar epinefrina a embriones de pollo del



estadio 24 de H-H a una dosis de 5µl al 0,1% sobre la membrana vitelina a nivel del corazón. Observaban arritmias cardíacas durante las primeras horas tras el tratamiento. Al analizar los embriones supervivientes, encontraron una mayor incidencia de malformaciones en arcos aórticos, tanto en el sentido de obliteración como de persistencia, y defectos septales ventriculares. Los autores miden la presión principal ventricular (mmH<sub>2</sub>O) mediante un manómetro de agua y sugieren que la presencia de arritmias cardíacas con una presión ventricular baja podría relacionarse con la obliteración anormal de los arcos aórticos y la ausencia de arritmias con presión ventricular alta guardaría relación con la persistencia anormal de arcos aórticos y defectos septales ventriculares.

En otra publicación del mismo año, 1984, RAJALA Y COL realizan el mismo experimento utilizando una dosis teratogénica de epinefrina (5µg) en embriones de pollo del estadio 24 de H-H y determinan las frecuencias cardíacas a los 20, 40 y 60 minutos tras la administración. Se observó una disminución significativa de la frecuencia cardíaca en 40% de los embriones tratados. Esta disminución de la frecuencia cardíaca parece deberse a las arritmias caracterizadas por bradicardia alternante con períodos de asistolia que se confirmaron mediante electrocardiografía. Los datos obtenidos del electrocardiograma sugieren la posibilidad de trastornos en los mecanismos de conducción inducidos por la epinefrina en algunos embriones.

BRUYERE Y COL (1984) aplican tópicamente 5µg (en muestras

de 5µl) de epinefrina sobre las membranas vitelinas próximas al corazón en embriones de pollo a lo largo del cuarto día de incubación (72-84 horas). Tras la administración de epinefrina, observan disminuciones significativas de los volúmenes al final de la sístole y diástole, volumen-latido y gasto cardíaco con aumento de la fracción de eyección. Todos estos cambios se mantuvieron durante una hora por lo menos tras la administración del agente. De seis embriones en los que se observaron disminución importante del volumen al final de la sístole y diástole, se obtuvieron tres embriones con defecto septal ventricular. Al reducirse el flujo de sangre a través del corazón, disminuye la perfusión de oxígeno en los tejidos septales en fase de organización y se produce la malformación cardíaca puesto que el déficit de oxígeno actúa como potente agente teratogénico sobre el sistema cardiovascular.

MATSUOKA Y COL (1984) administran 1 ml de suero salino con 3,8 mg (0,02M) o 2,8 mg (0,015M) de teofilina sobre la superficie de la membrana corioalantoidea de embriones de pollo entre los días 3 y 11 de incubación. Obtienen aneurismas aórticos en frecuente combinación con otras malformaciones cardiovasculares: defecto septal ventricular subaórtico con aorta a caballo, defecto septal ventricular infundibular y doble salida del ventrículo derecho con defecto septal ventricular. Parece ser que estas malformaciones anteceden a la producción del aneurisma y se acompañan de aumento en el flujo aórtico.

Los estudios microscópicos que realizan estos autores revelan que la exposición de embriones de pollo de cinco días de incubación a 3,8 mg de teofilina, se acompaña de adelgazamiento de la pared aórtica que parece deberse a disminución en el número de capas medias celulares, espacio intercelular más amplio e interrupción de la línea de células endoteliales.

Los autores afirman que la teofilina produce muerte celular e inhibe la proliferación celular en tejidos en fase de crecimiento rápido por aumento del AMP cíclico. Además, la disminución de frecuencia cardíaca, las arritmias y el volumen-latido disminuido, durante dos-tres horas tras la inyección, sugieren el resultado de un gasto cardíaco bajo que puede determinar una rotación incompleta del tronco aorto-pulmonar en el corazón de pollo embrionario. El efecto contrario que se produce tras 8-20 horas después de la inyección, con aumento importante del volumen-latido, en unión con otras malformaciones cardíacas que incrementan el flujo aórtico; contribuye a la formación de aneurismas aórticos en estos embriones.

CAMERON Y COL (1984) inyectan sulfato de dextroamfetamina (0,25 mg/huevo) a embriones de pollo en el cuarto día de incubación (estadio 24 de H-H). Observan una elevación de la presión ventricular principal tras una a cuatro horas después de la administración y una disminución de la frecuencia cardíaca dos, tres y cinco horas tras la inyección. Los autores piensan que la elevación de la presión ventricular principal

durante períodos críticos de la septación ventricular y a nivel de los arcos aórticos puede considerarse un factor etiológico en la génesis de malformaciones en estas estructuras ya que la persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo y los defectos septales ventriculares son las malformaciones más frecuentemente obtenidas tras la inyección de dextroamfetamina.

FITZHARRIS Y COL (1980) inyectan 500 µg de fumurato de β-aminopropionitrilo (BAPN) a embriones de pollo de estadios 12 a 14 y 22 a 23 de H-H. Esta sustancia actúa como inhibidora de las uniones puente del colágeno que constituye el principal elemento de la matriz extracelular en estadios precoces del corazón en desarrollo. Cuando se inyecta el BAPN en la región pericárdica de embriones de pollo antes de la morfogénesis valvular y septal (estadios 12 a 14) no se observó ningún efecto sobre la aparición o migración del tejido mesenquimatoso de los cojinetes. Sin embargo, cuando se administraba en estadios 22-23, se producían aneurismas truncales que determinaban la muerte del embrión. El estudio ultraestructural mostraba alteraciones en la superficie celular de endocardio y miocardio, con depósito de material electrodensó. Los autores concluyen que el colágeno es una macromolécula estructural más que un inductor en fases precoces del desarrollo cardíaco. El BAPN podría causar anomalías cardíacas por modificación del colágeno.

Otro agente teratogénico sobre el sistema cardiovascular es el alcohol. Dentro del conjunto de malformaciones descritas como "síndrome de alcohol fetal" que padecen los hijos de

mujeres alcohólicas, se han observado malformaciones cardíacas (NORA Y HART NORA, 1984). BEAUCHEMIN Y COL (1984) inyectan intraperitonealmente una única dosis de solución de alcohol (0,03 ml/gr de peso corporal de una solución al 25% de etanol al 95%) en el décimo día de preñez a ratas Sprague-Dawley. Estudiando los fetos en el 18º día de gestación, se observó adactilia, gastrosquisis y piel arrugada. El examen histológico reveló la presencia de hernias inguinales importantes y defectos septales auriculares. El defecto septal interauricular era del tipo ostium secundum y ocurrió en 41% de los fetos de animales tratados, no observándose en los controles.

**JUSTIFICACION**

#### JUSTIFICACION

Como puede observarse tras la lectura de la revisión bibliográfica que hemos hecho, el número de publicaciones que barajan los factores etiopatogénicos y la influencia del factor hemodinámico en la morfogénesis cardíaca es muy abundante pero no concluyente y con frecuentes contradicciones, por lo que nos hemos propuesto analizar dicho factor hemodinámico en la septación cardíaca y ver qué resultados se producen tras sus modificaciones.

En el año 1981 iniciamos con el Profesor Puerta Fonollá un proyecto de investigación destinado a analizar la influencia del factor hemodinámico sobre los procesos de septación cardíaca utilizando el embrión de pollo como modelo experimental.

Con tal fin, hemos actuado sobre el polo venoso del corazón embrionario a distancia, para obviar el factor mecánico, mediante diferentes técnicas que conseguían impedir la circulación a través de los vasos vitelinos derechos o izquierdos entre los estadios 10-11 y 20-21 de Hamilton-Hamburger (1951). Posteriormente eran reincubados observando

los cambios circulatorios y la viabilidad del embrión,  
procediendo a fijarlos en el momento oportuno.



**MATERIAL Y METODOS**

Hemos utilizado 617 embriones de ave de la especie Gallus-Gallus Domesticus, pertenecientes a las razas Hubbard, Arvor-Acres (razas pesadas), Shauer y Dekal (razas ligeras). Hemos rechazado la raza Leghorn blanca por presentar, de forma espontánea, una incidencia elevada de malformaciones cardíacas: 7,1% de malformaciones en el arco aórtico y 11,7% de defecto septal ventricular (KUHLMAN Y KOLESARI, 1984). La línea S de la raza Leghorn marrón muestra defectos septales ventriculares de forma espontánea (RYCHTER Y COL, 1960; RYCHTER Y LENEZ, 1978). Por el contrario, en las razas que hemos manejado se produce una incidencia espontánea de microftalmía del 1% y el índice de fecundidad alcanza el 98%.

La intervención sobre los vasos vitelinos izquierdos del embrión se ha practicado en 293 casos, sobre los vasos vitelinos derechos en 294 casos y hemos dejado 30 embriones sin intervenir como grupo control.

Veinticuatro horas antes de la intervención procedimos a la extracción de 2 cc de albúmina para evitar que el embrión quedara adherido a la cáscara.

En el momento de la intervención, los embriones oscilaban entre el estadio 10-11 al 20-21 de HAMBURGER-HAMILTON (1951), es decir, entre 35-42 horas de incubación hasta 72-84 horas. En las figuras 1 y 2 podemos apreciar dos esquemas correspondientes a embriones de los estadios 13 y 18 H-H respectivamente.

La apertura del embrión se ha realizado según técnicas

habituales y el tipo de intervención ha dependido fundamentalmente de la edad embrionaria:

- Hasta el estadio 14 de H-H hemos seccionado el área vascular próxima al ductus de Cuvier, en el lado correspondiente, mediante microbisturí de tungsteno previamente esterilizado (Lado derecho: D1; lado izquierdo: I<sub>1</sub>).

- Desde el estadio 15 de H-H se han diversificado las técnicas:

- . Ligadura y sección de la vena o tronco vitelinos mediante compresión y sección de los vasos con pinza de extremos muy afilados. Posteriormente, se mantenía la compresión de los extremos seccionados hasta comprobar que no existía hemorragia (Lado derecho: D2; lado izquierdo: I2).

- . Micro-cauterización utilizando un cauterizador destinado a microcirugía oftalmológica de la casa Moria. Posteriormente se realiza la sección de los extremos en el punto donde se había practicado la cauterización (Lado derecho: D3; lado izquierdo: I3).

- . Introducción del gancho de STEPHAN (1952) debajo de los vasos hasta interrumpir la circulación (Lado derecho: D4; lado izquierdo: I4).

Tras la intervención se reincubaban los embriones por un

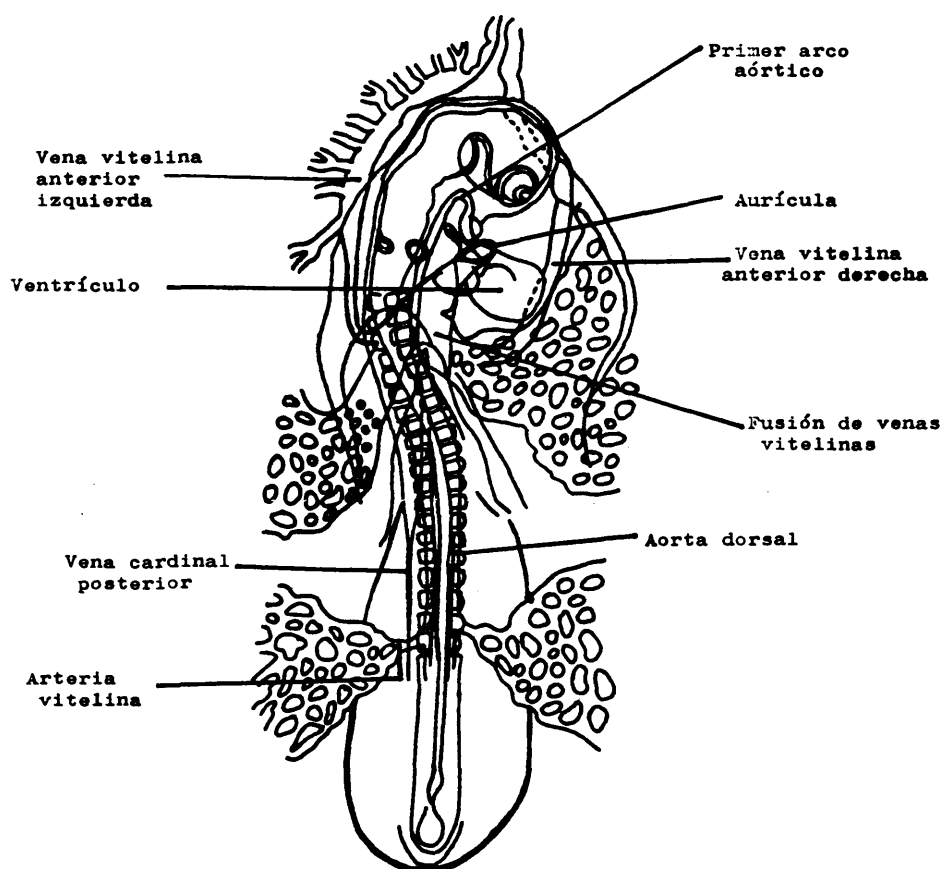


FIGURA 1.- Esquema de un embrión de pollo del estadio 13 de Hamburger-Hamilton.

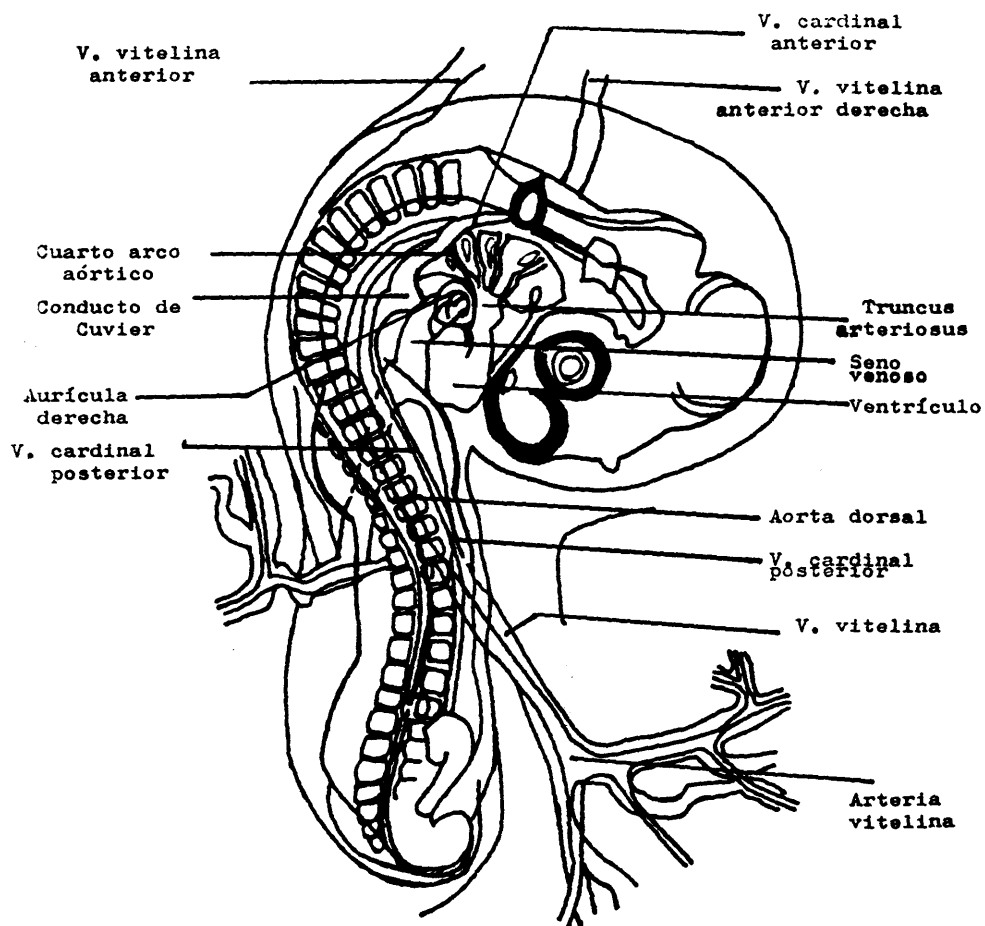


FIGURA 2.- Esquema de un embrión de pollo del estadio 18 de Hamburger-Hamilton.

período que ha oscilado entre 19 y 163 horas, con una media de 79 horas por embrión cuando se intervenía sobre el lado izquierdo y entre 24 y 192 horas, con una media de 65 horas por embrión, cuando se actuaba sobre el lado derecho. Los embriones intervenidos eran revisados durante la reincubación para observar los cambios circulatorios y vitalidad del embrión.

Tras realizar la apertura, una vez finalizado el período de reincubación, fijamos el embrión en formol neutro al 10%. A continuación, hemos datado estos embriones según los criterios de Hamburger-Hamilton y hemos medido su longitud vértex-cóccix en milímetros.

A partir del estadio 29 de H-H fue preciso proceder con decalcificación con ácido tricloroacético al 5% durante un período de 2-3 días según el estadio del embrión.

Tras la fijación-decalcificación se incluyeron en parafina según el siguiente método:

- Lavado en agua.
- Alcoholes ascendentes (502, 602, 702, 802, 962, 1002).
- Butanol (tres pasos).
- Parafina de 582 a 602 de fusión.
- Bloque en parafina de 582 a 602 de fusión.

Los cortes histológicos seriados se realizaron en un microtomo de arrastre de la casa Leitz modelo 1.512, con un grosor medio de 7-8 micras.

La tinción utilizada ha sido la de hematoxilina-eosina y, en dos ocasiones, la técnica de azan como describimos a

continuación.

**Método de la hematoxilina-eosina:**

- .Desparafinar en xilol.
- .Alcohol de 96º.
- .Lavar en agua corriente.
- .Hematoxilina de Carazzi: 5-7 minutos.
- .Lavar abundantemente y dejar al grifo hasta virar.
- .Eosina: 1 minuto.
- .Lavar en agua.
- .Alcohol de 96º y absoluto.
- .Carbolxilol.
- .Xilol.
- .Montar en bálsamo.

Resultado: Núcleos celulares y sustancia fundamental del cartilago azul; citoplasma celular, fibras colágenas y eritrocitos en rojo.

**Método de azan:**

- .Desparafinar.
- .Azocarmin 20-30 minutos a 60º.
- .Lavado en agua corriente y limpiar los portas.
- .Aceite de anilina 1% en alcohol 96º durante 3-4 minutos.
- .Acido acético 1% en alcohol 96º durante 2-3 minutos.
- .Acido fosfotúngstico al 5% durante 5-10 minutos.
- .Lavado en agua.

.Tinción en ácido acético, azul anilina y naranja durante 20-30 minutos.

.Lavado en agua.

.Montaje corriente.

Solución de azocarmin.- Disolver por cada 100 ml de agua destilada 1 gramo de azocarmin G. Hervir la solución.

Dejar enfriar, filtrar, añadir 1 ml ácido acético puro por cada 100 ml.

Solución anilina-azul, naranja, ácido acético.-

.Anilina azul 0,5 gr soluble en agua.

.Naranja G 2 gramos.

.Agua destilada 100 cc.

.Acido acético 8 cc.

Hervir y filtrar después de enfriarse. Para usar disolver una parte de colorante en dos de agua destilada.

Resultado: Tejido conjuntivo en azul.

Músculo en rojo.

Hemos realizado dos reconstrucciones parciales por el método de BORN (1883), a 140 aumentos, del corazón del embrión LV-70 que alcanzó un estadio 31 de H-H en el momento de la fijación.

El estudio microscópico se llevó a cabo con un microscopio óptico Optiphot (Nikon) con el que se han efectuado las



microfotografías utilizando película Ilford Pan F, revelándose como sigue:

- 18 cc de Rodinal en 500 cc de agua a 18-22º durante 8,5 minutos.

- Lavar abundantemente.

- 100 cc de fijador de película Valca en 400 cc de agua durante 5 minutos.

En la confección de este trabajo se ha utilizado un ordenador personal IBM PC de 464 Kb con dos unidades de diskettes de 5,25 pulgadas y una unidad de disco duro de 10 Mb así como el programa de tratamiento de textos, base de datos y gráficos de Open Access. Hemos aplicado los programas Execuvision y Microstat en la obtención de gráficos y datos estadísticos respectivamente. La impresión se ha realizado con una impresora Star modelo Geminix-15.

## RESULTADOS

## **RESULTADOS**

**- ESTUDIO ESTADISTICO**

**- ESTUDIO MORFOLOGICO**

**ESTUDIO ESTADISTICO**

En la realización de nuestro proyecto de investigación hemos seleccionado 617 embriones "a priori" normales tanto para el grupo control como para los que han sido intervenidos. Hemos estudiado las malformaciones de los embriones fijados (317 embriones), es decir, las de aquellos embriones vivos (188 embriones) o recién muertos (129 embriones) en el momento de la fijación. En el APENDICE incluimos el protocolo de las intervenciones realizadas pormenorizando los datos correspondientes a cada embrión.

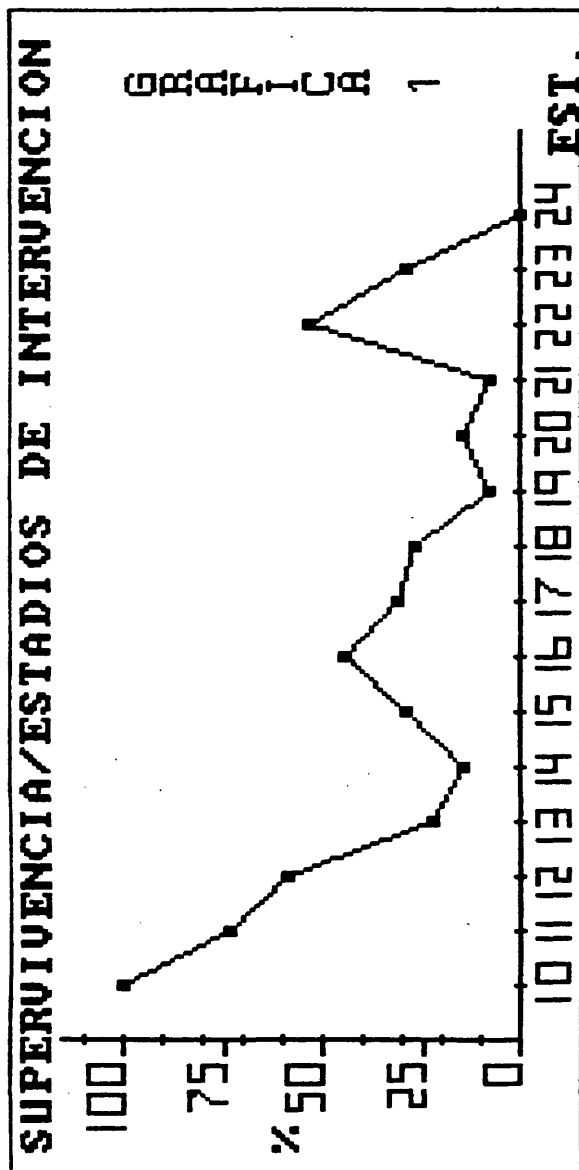
En la Tabla I expresamos la supervivencia porcentual (columna 4) en relación a los estadios de intervención (columna 1). En las columnas 2 y 3 figuran el número de embriones intervenidos y supervivientes respectivamente, en valor absoluto. Podemos observar cómo la mayor población de embriones, tanto intervenidos como supervivientes se localiza alrededor de los estadios 16 a 18 H.H., disminuyendo en los períodos previos y posteriores. Por el contrario, para identificar con nitidez la supervivencia porcentual presentamos los resultados obtenidos en la Gráfica 1.

La Gráfica 1 expresa la relación existente entre supervivencia porcentual y estadios de intervención según los datos expuestos en la Tabla I. Podemos observar la importante

## T A B L A I

## SUPERVIVENCIA / ESTADIO DE INTERVENCION

ESTADIO DE INTERVENCION	NRO. EMBRIONES INTERVENIDOS	NRO. EMBRIONES SUPERVIVIENTES	% SUPERV. / INTERV.
10-10.5	5	5	100
11-11.5	26	19	73.08
12-12.5	17	10	58.82
13-13.5	23	5	21.74
14-14.5	41	6	14.63
15-15.5	41	12	29.27
16-16.5	68	30	44.12
17-17.5	144	44	30.56
18-18.5	151	40	26.49
19-19.5	26	2	7.69
20-20.5	27	4	14.81
21-21.5	26	2	7.69
22-22.5	15	7	53.35
23-23.5	7	2	28.57
24-24.5	2	0	0



Número de casos = 15

Media=34,0880 ; Desviación standard=27,4511

Varianza=753,5631 ; Coeficiente de variación=80,5301

Error standard de la media= 7,0878

La hipótesis de que la muestra estudiada es normal no puede mantenerse para un nivel de confianza del 95% .

disminución de supervivencia cuando intervenimos seccionando el área vascular desde el estadio 10 al 14 H.H. Posteriormente la supervivencia asciende presentando dos picos en la gráfica y que corresponden a los estadios 16 y 22-23 H.H. respectivamente.

Al pie de la gráfica expresamos los valores de la media aritmética, desviación standard, varianza, coeficiente de variación y error standard de la media (ESM). La hipótesis de que la muestra estudiada se adapte a una distribución normal no puede mantenerse para un nivel de confianza del 95%.

En la Tabla II figuran los datos correspondientes al tipo de intervención (columna 1), número de embriones operados (columna 2), número de embriones supervivientes en valor absoluto (columna 3) y porcentual (columna 4), y pérdida media de desarrollo en estadios de HAMBURGER-HAMILTON (1951) (columna 5). La pérdida de desarrollo se calcula por la diferencia en estadios entre el obtenido y el que teóricamente debería haber alcanzado según las horas de incubación.

En la primera fila se expresan los embriones controles mientras que en las filas segunda y tercera figuran los grupos  $D_1$  e  $I_1$ , es decir, los embriones intervenidos por sección del área vascular entre los estadios 10 a 14 H.H. en el lado derecho e izquierdo respectivamente. En las filas siguientes se presentan  $D_2$  e  $I_2$ ,  $D_3$  e  $I_3$  y  $D_4$  e  $I_4$  que, como hemos comentado en MATERIAL Y METODOS, corresponden a las diferentes técnicas empleadas en los embriones a partir del estadio 15 H.H. En



## T A B L A I I

## SUPERVIVENCIA - PERDIDA DE DESARROLLO / TIPO DE INTERVENCION

TIPO DE INTERV.	NRO. EMBR. INTERVENIDOS	NRO. EMBRIONES SUPERVIV. NRO.	% SUP.	PERDIDA DE DESARROLLO
C	30	24	80	0.12
D1	41	4	9.76	-2.33
I1	42	26	61.90	-1.05
D2	25	6	24	-0.72
I2	181	58	32.04	-0.67
D3	194	54	27.84	-0.53
I3	35	7	20	-0.14
4	33	7	21.21	-1.25
4	36	2	5.56	-2.41
D2 + D3 + D4	252	67	26.59	-0.83
I2 + I3 + I4	252	67	26.59	-1.07

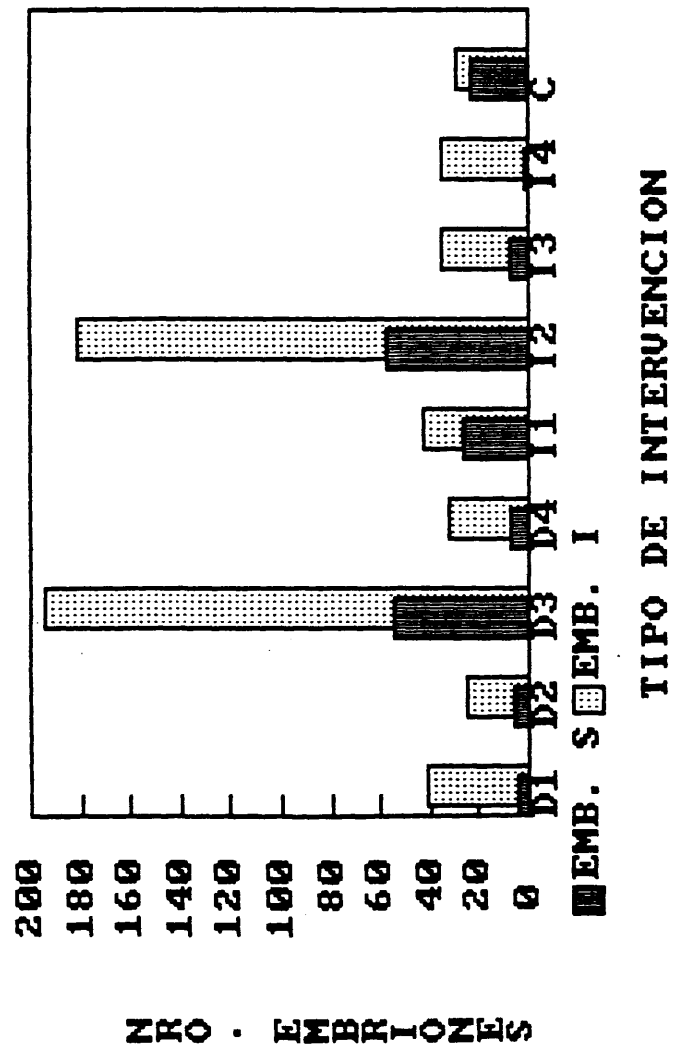
## TIPO DE INTERVENCION

- C: EMBRION CONTROL.  
 D1: SECCION DEL AREA VASCULAR EN EL LADO DERECHO.  
 I1: IDEM PARA EL LADO IZQUIERDO.  
 D2: LIGADURA Y SECCION DE LOS VASOS VITELINOS DERECHOS MEDIANTE PRESION Y POSTERIOR TRACCION.  
 I2: IDEM PARA EL LADO IZQUIERDO.  
 D3: CAUTERIZACION Y SECCION DE LOS VASOS VITELINOS DERECHOS.  
 I3: IDEM PARA EL LADO IZQUIERDO.  
 D4: INTRODUCCION DE GANCHO DE STEPHAN PARA SUPRIMIR LA CIRCULACION VITELINA DERECHA.  
 I4: IDEM PARA EL LADO IZQUIERDO.

las dos últimas filas agrupamos los datos de las distintas técnicas:  $D_2 + D_3 + D_4$  e  $I_2 + I_3 + I_4$  como sumatorio de los resultados obtenidos en ambos lados. El número de embriones independientemente del lado intervenido (columna 2) es prácticamente igual para los embriones jóvenes ( $D_1=41$ ;  $I_1=42$ ) e idéntico para los embriones mayores ( $D_2 + D_3 + D_4 = I_2 + I_3 + I_4 = 252$ ). Al considerar las técnicas individualmente (columna 3), apreciamos una diferencia significativa de la supervivencia entre ellas. Sin embargo, el total de embriones supervivientes de las técnicas de intervención efectuadas sobre los embriones mayores ( $D_3 + D_3 + D_4 = I_2 + I_3 + I_4 = 67$ ) es el mismo. Al analizar la supervivencia porcentual (columna 4) nos llama la atención la disminución evidente para  $D_1$  e  $I_1$  frente a  $I_2$  y  $D_4$ . La mayor pérdida de desarrollo (columna 5) corresponde a los embriones intervenidos precozmente mediante sección del área vascular ( $D_1$  e  $I_1$ ) y a los que se introdujo el gancho de Stephan ( $D_4$  e  $I_4$ ).

En la Gráfica 2 representamos mediante un diagrama de barras el número de embriones supervivientes con respecto al número de embriones intervenidos, expresados ambos en valor absoluto. Puede observarse que las técnicas más empleadas fueron  $D_3$  (cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos) e  $I_2$  (ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos mediante presión y posterior tracción), técnicas a las que corresponde también el mayor número de embriones supervivientes en valor absoluto.

# EMBRIONES INT. Y SUP./TIPO INTERUENCION



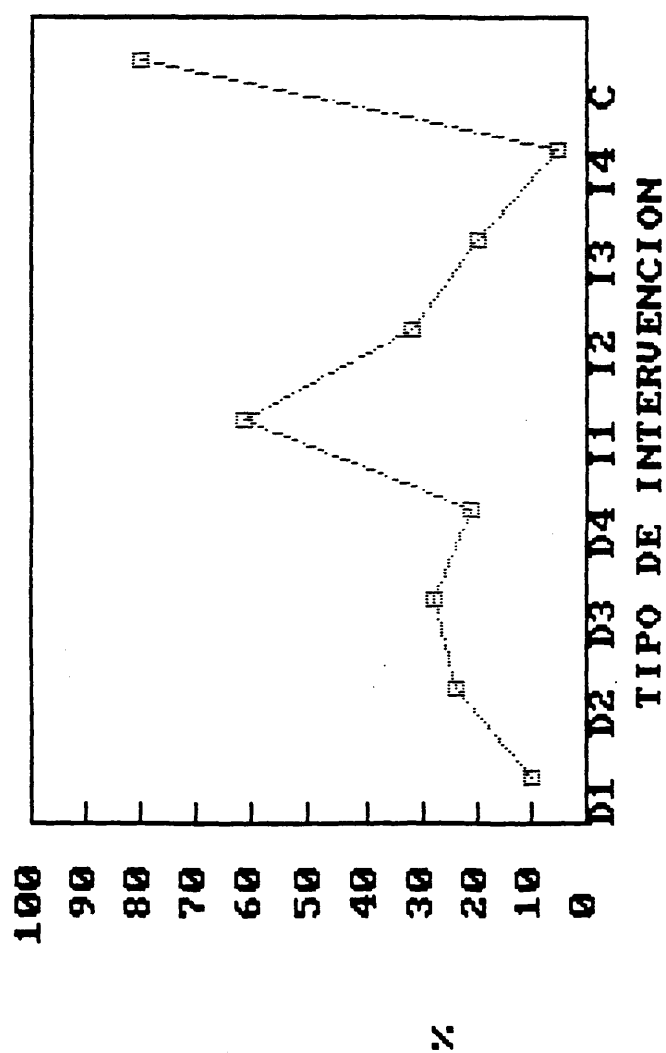
La Gráfica 3 muestra la relación entre la supervivencia porcentual y las diferentes técnicas de intervención. Como es lógico, la mayor supervivencia corresponde a los embriones controles, de lo que podemos deducir la escasa influencia de la apertura del huevo sobre la supervivencia del embrión. Las intervenciones 1 y 2 son menos agresivas en el lado izquierdo que en el derecho. Por el contrario, las técnicas 3 y 4 son menos agresivas en el lado derecho. En definitiva, todas las técnicas resultan agresivas puesto que la supervivencia no sobrepasa el 30% a excepción de  $I_1$ .

En la Gráfica 4 se pone de manifiesto la pérdida de desarrollo media en cada una de las técnicas empleadas y podemos observar cómo las intervenciones  $D_1$  e  $I_4$  producen las mayores pérdidas.

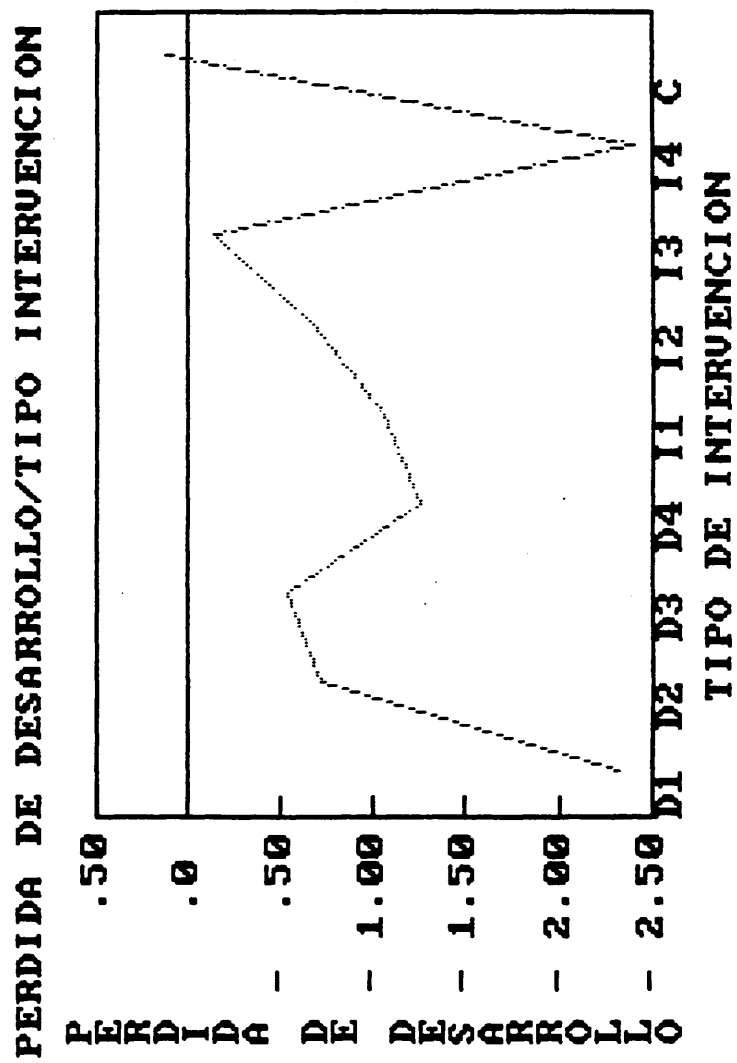
Si consideramos las intervenciones en el lado derecho y comparamos la pérdida de desarrollo (Gráfica 4) con la supervivencia (Gráfica 3), apreciamos que la menor supervivencia coincide con la mayor pérdida de desarrollo en  $D_1$  seguida de  $D_4$ , siendo las intervenciones mejor toleradas  $D_2$  y  $D_3$ . En el lado izquierdo, la técnica  $I_4$  es la de menor supervivencia y máximo grado de pérdida de desarrollo; la técnica  $I_1$  produce buena supervivencia con pérdida de desarrollo importante y la intervención  $I_3$  provoca supervivencia escasa con poca pérdida de desarrollo. La técnica  $I_2$  resulta bien tolerada. La lesión, por tanto, no es

GRAFICA 3

EMB. SUPERVIVIENTES %/TIPO INTERUENCION



GRAFICA 4



superponible en los lados derecho e izquierdo. Las técnicas  $D_3$  e  $I_2$  que, como hemos visto antes, corresponden al mayor número de embriones intervenidos, resultan bien toleradas en cuanto a supervivencia absoluta y porcentual por un lado, y pérdida de desarrollo por otro.

En la Tabla III consideramos el estadio de intervención (columna 1), los embriones seleccionados por cada estadio (columna 2) y los parámetros que hemos analizado para valorar el desarrollo de los embriones intervenidos. Estos parámetros fueron: pérdida de desarrollo (media aritmética: columna 3 y desviación standard: columna 4) y longitud vértex-cóccix (media aritmética: columna 5 y desviación standard: columna 6).

La Gráfica 5 representa la relación existente entre la pérdida de desarrollo y el estadio de intervención considerado, mientras que la Gráfica 6 muestra la relación entre longitud vértex-cóccix y estadios de intervención.

A partir del estadio 14 H.H. observamos cómo resulta coherente la pérdida de desarrollo (Gráfica 5) con la longitud vértex-cóccix (Gráfica 6) alcanzadas. Hasta el estadio 13 H.H. incluido, independientemente del estadio de intervención, alcanzan una longitud vértex-cóccix homogénea. Por el contrario, con respecto a la pérdida de desarrollo, ésta presenta una curva descendente de forma que cuanto más pequeño es el embrión menor es la pérdida de desarrollo hasta el estadio 12 H.H., para tener una brusca recuperación entre los

## T A B L A I I I

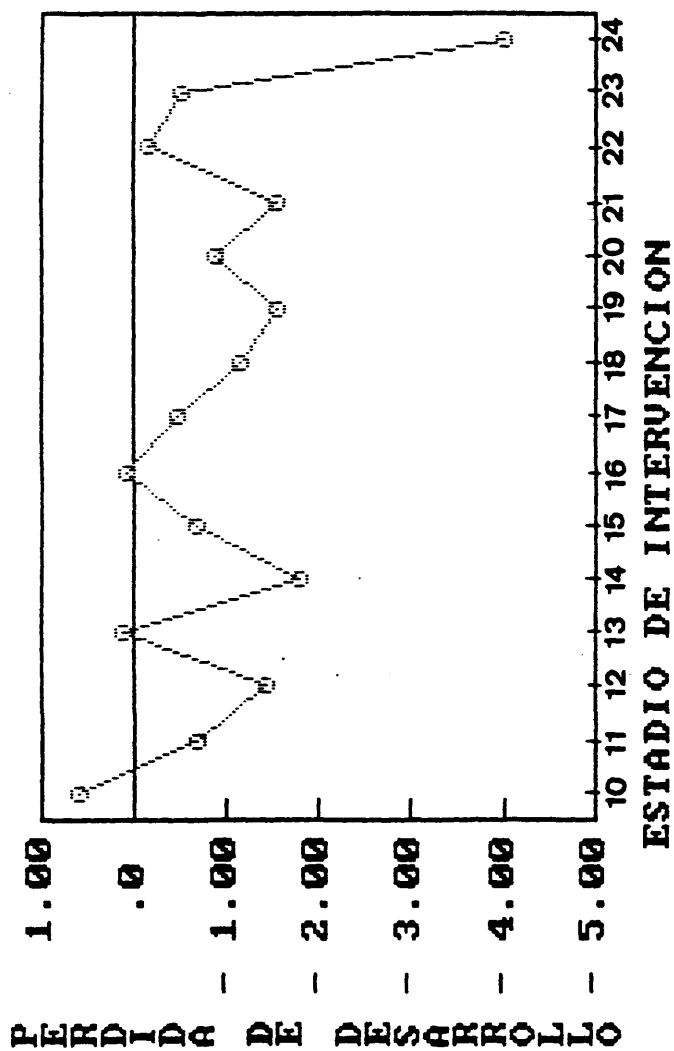
PERDIDA DE DESARROLLO - LONGITUD V. C. / ESTADIO DE INTERVENCION

ESTADIO INTERV.	NRO. EMBR. FIJADOS	PERDIDA DE MEDIA	DESARROLLO DESV. ST.	LONGITUD V.C. MEDIA	DESV. ST.
10-10.5	5	0.60	0.65	11.60	3.71
11-11.5	22	-0.68	1.49	10.86	3.38
12-12.5	13	-1.42	3.10	11	3.32
13-13.5	8	0.12	2.57	10.62	6.97
14-14.5	11	-1.77	2.53	11.55	4.51
15-15.5	22	-0.66	1.83	13.79	6.01
16-16.5	38	0.09	1.71	18.27	6.59
17-17.5	75	-0.47	1.68	13.33	5.55
18-18.5	68	-1.14	1.47	15.41	6.14
19-19.5	13	-1.54	1.13	9.09	3.22
20-20.5	18	-0.89	1.25	10.75	5.67
21-21.5	12	-1.54	1.50	9.75	3.58
22-22.5	9	-0.17	1.39	17.87	4.65
23-23.5	2	-0.50	0.71	16.50	5.53
24-24.5	1	-4	0	11.50	0



GRÁFICA 5

## PERDIDA DE DESARROLLO / EST. INTERUENCION



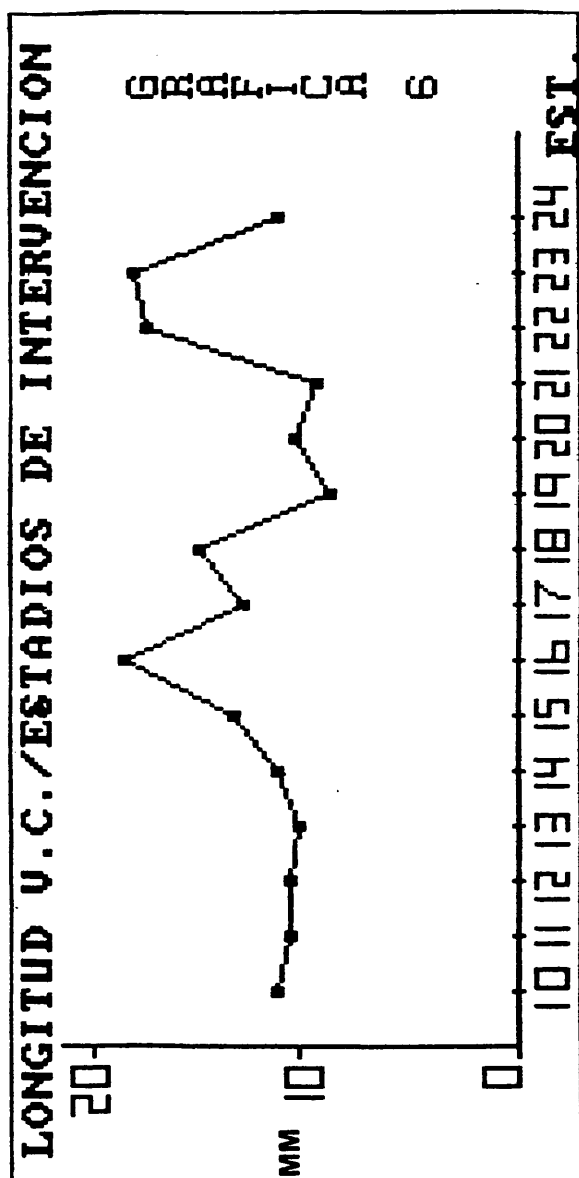
Número de casos = 15

Media=-0,9307 ; Desviación standard=1,0946

Varianza=1,1982

Error standard de la media=0,2826

La hipótesis de que la muestra estudiada es normal no puede mantenerse para un nivel de confianza del 95% .



Número de casos = 15

Media=12,9733 ; Desviación standard=3,2425

Varianza=10,5138 ; Coeficiente de variación=24,9936

Error standard de la media=0,8372

La hipótesis de que la muestra estudiada es normal puede mantenerse para un nivel de confianza del 95% .

estadios 12 y 13 H.H., de forma que en éste último la pérdida de desarrollo también es pequeña. En la Gráfica 5 y a partir del estadio 14 H.H. observamos dos mínimos de pérdida de desarrollo correspondientes a los estadios 16 y 22 H.H., mientras que aparecen dos máximos en los estadios 16 y 23 H.H. para la longitud vértex-cóccix alcanzada (Gráfica 6). Esto presupone que en los embriones intervenidos alrededor del estadio 16 H.H. se obtiene una buena correlación entre la pérdida de desarrollo y la longitud vértex-cóccix, que expresa la escasa diferencia entre éstos y los controles. Probablemente este hecho sea debido a las buenas condiciones técnicas que ofrece este estadio (fácil acceso a los vasos vitelinos, menor número y volumen de hemorragias post-intervención, etc).

Al pie de las Gráficas 5 y 6 reflejamos los datos correspondientes a la media aritmética, desviación standard, varianza, coeficiente de variación y error standard de la media.

Para la relación pérdida de desarrollo/ estadio de intervención (Gráfica 5) la hipótesis de que la muestra estudiada se adapte a una distribución normal no puede mantenerse para un nivel de confianza del 95%. Por el contrario, para la relación longitud vértex-cóccix/ estadio de intervención (Gráfica 6), la hipótesis de que la muestra estudiada se adapte a una distribución normal puede mantenerse para un nivel de confianza del 95%. En este caso, la ecuación de la curva que representa dicha distribución es:

$$y = a \cdot e^{-b(x-m)^2}$$

donde  $a$  y  $b$  son dos constantes que pueden calcularse a partir del valor de la desviación standard ( $\sigma$ ):

$$a = \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}}$$

y

$$b = \frac{1}{2 \cdot \sigma^2}$$

Sustituyendo se obtiene:

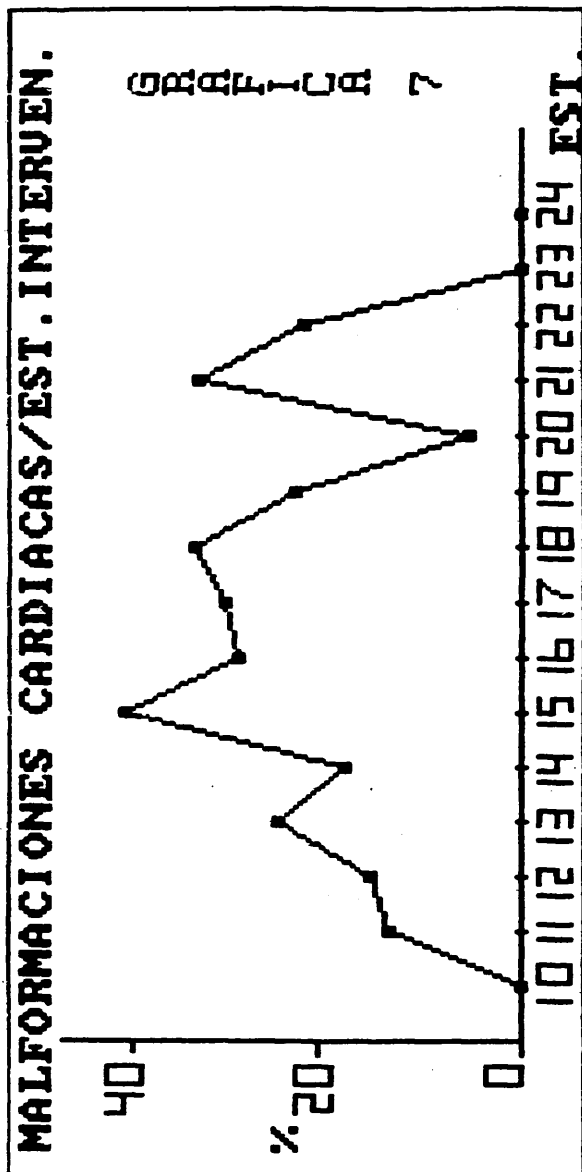
$$y = 0,1230 \cdot e^{-0,0475(x-12,9733)^2}$$

En la Tabla IV analizamos la presencia de malformaciones cardíacas, extracardíacas y la suma de ambas, en valores absolutos y porcentuales (columnas 3 a 8), en relación al estadio de intervención (columna 1) considerando todos los embriones seleccionados (columna 2).

La Gráfica 7 representa la relación entre malformaciones cardíacas expresadas porcentualmente y los estadios de intervención. En los estadios inferiores al 11H.H. y superiores al 22 H.H. no se observan malformaciones cardíacas. Sin

T A B L A I V  
MALFORMACIONES / ESTADIO DE INTERVENCION

ESTADIO INTERV.	NRO. EMBR.	MALF.CARDIACAS N.EMBR.	%	MALF.EXTRACARD. N.EMBR.	%	TOTAL MALF. N.EMBR.	%
10-10.5	5	0	0	0	0	0	0
11-11.5	22	3	13.64	1	4.55	4	18.18
12-12.5	13	2	15.38	0	0	2	15.38
13-13.5	3	2	25	1	12.50	2	25
14-14.5	11	2	18.18	2	18.18	4	36.36
15-15.5	22	9	40.91	3	13.64	9	40.91
16-16.5	38	11	28.95	8	21.05	17	44.74
17-17.5	75	23	30.67	9	12	30	40
18-18.5	68	23	33.82	6	8.82	26	38.24
19-19.5	13	3	23.08	1	7.69	3	23.08
20-20.5	18	1	5.56	4	22.22	5	27.78
21-21.5	12	4	33.33	1	8.33	4	33.33
22-22.5	9	2	22.22	0	0	2	22.22
23-23.5	2	0	0	0	0	0	0
24-24.5	1	0	0	0	0	0	0



Número de casos = 15

Media=19,3827 ; Desviación standard=13,3822

Varianza=179,0842 ; Coeficiente de variación=69,0423

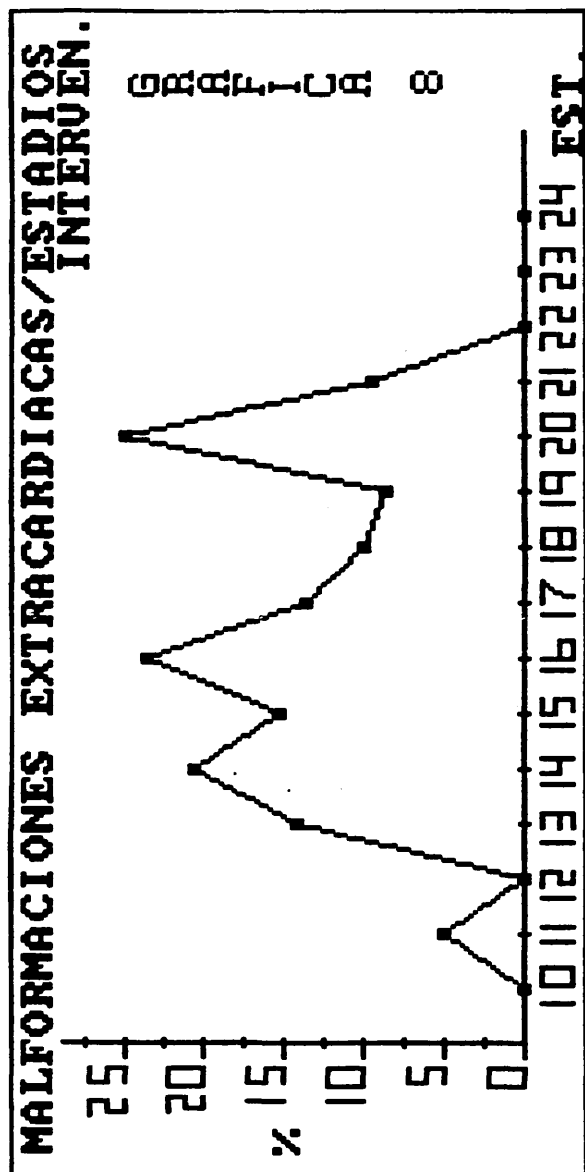
Error standard de la media=3,4553

La hipótesis de que la muestra estudiada es normal no puede mantenerse para un nivel de confianza del 95% .

embargo, entre los estadios 11 y 22 H.H., el máximo se encuentra en el estadio 15 H.H. y el mínimo en el estadio 20 H.H. Por debajo del estadio 15 H.H., el porcentaje de malformaciones se sitúa entre el 15 y 25% mientras que, por encima del estadio 15 H.H. hasta el estadio 20 H.H. incluido, se aprecia un porcentaje de malformaciones que oscila entre 25 y 35%.

La Gráfica 8 indica la relación entre malformaciones extracardiacas expresadas porcentualmente y estadios de intervención. Este tipo de malformaciones es en general menos frecuente que las malformaciones cardíacas, de tal manera que por debajo del estadio 13 H.H. y por encima del estadio 21 H.H., las lesiones son mínimas. Entre estos dos estadios encontramos dos máximos que corresponden a los estadios 16 y 20 H.H. respectivamente y un mínimo en el estadio 19 H.H., estando el resto comprendido entre el 7,5 y 17,5%.

Si comparamos las malformaciones cardíacas (Gráfica 7) y las extracardiacas (Gráfica 8), en función del estadio de intervención, comprobamos que en el estadio 15 H.H. las malformaciones cardíacas tienen un máximo mientras que las extracardiacas muestran un punto de inflexión negativo. De igual forma, entre los estadios 16 y 19 H.H., ambas curvas son simétricas pero de signo contrario, siendo positiva para las malformaciones cardíacas y negativa para las extracardiacas. En el estadio 20 H.H. hay un máximo para las malformaciones extracardiacas (Gráfica 8), mientras que existe un mínimo para



Número de casos = 15

Media=8,5987 ; Desviación standard=7,8903

Varianza=62,2576 ; Coeficiente de variación=91,7625

Error standard de la media=2,0373

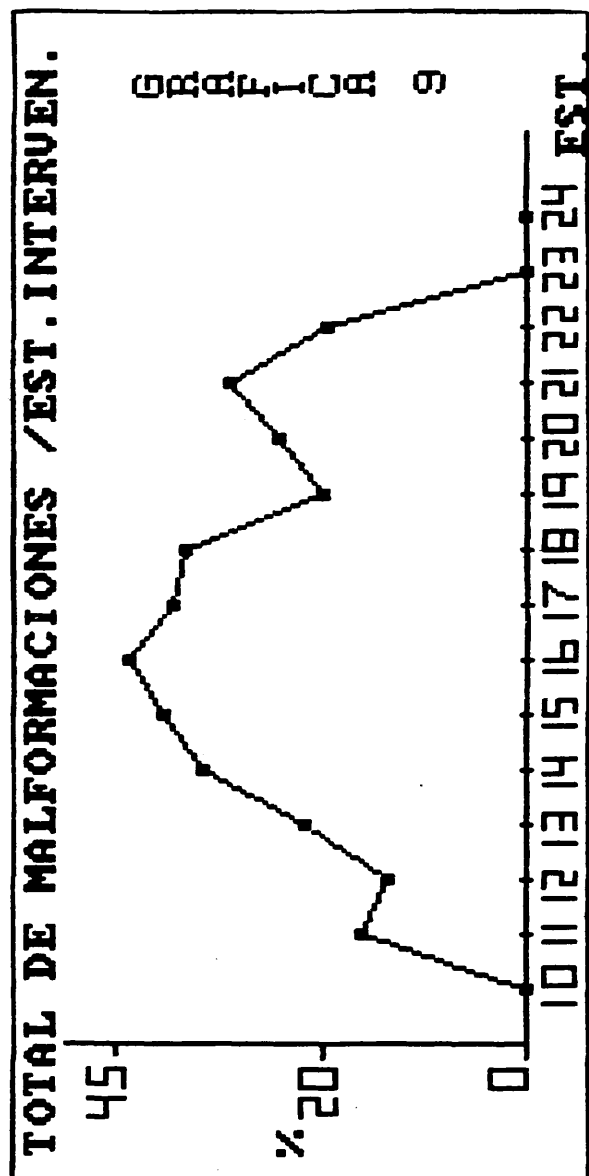
La hipótesis de que la muestra estudiada es normal puede mantenerse para un nivel de confianza del 95% .



las cardíacas (Gráfica 7).

La Gráfica 9 muestra la relación entre el total de malformaciones tomado porcentualmente y el estadio de intervención. En la Gráfica 10 observamos, en un diagrama de barras tridimensional, los dos grupos de malformaciones referidos: cardíacas y extracardiacas así como la suma de ambas (en expresión porcentual) en relación al estadio de intervención. Del análisis de estas dos Gráficas (9 y 10) se desprende la existencia de dos periodos malformativos máximos: uno, entre los estadios 14 y 18 H.H. con máximo en el 16 y otro entre los estadios 20 y 22 H.H. con máximo en el 21. Los estadios de máxima frecuencia de malformaciones corresponden, pues, a los estadios 16 y 21 H.H.

Al pie de las Gráficas 7, 8 y 9 figuran los datos estadísticos correspondientes: media aritmética, desviación standard, varianza, coeficiente de variación y error standard de la media. En ambos casos, para las relaciones malformaciones cardíacas/estadio de intervención y suma de malformaciones/estadio de intervención, la hipótesis de que las muestras estudiadas se adapten a una distribución normal no puede mantenerse para un nivel de confianza del 95%. Por el contrario, en la relación malformaciones extracardiacas/estadio de intervención sí puede mantenerse dicha hipótesis para un nivel de confianza del 95%. En este caso, la ecuación general de la curva se expresaría de la siguiente forma:



Número de casos = 15

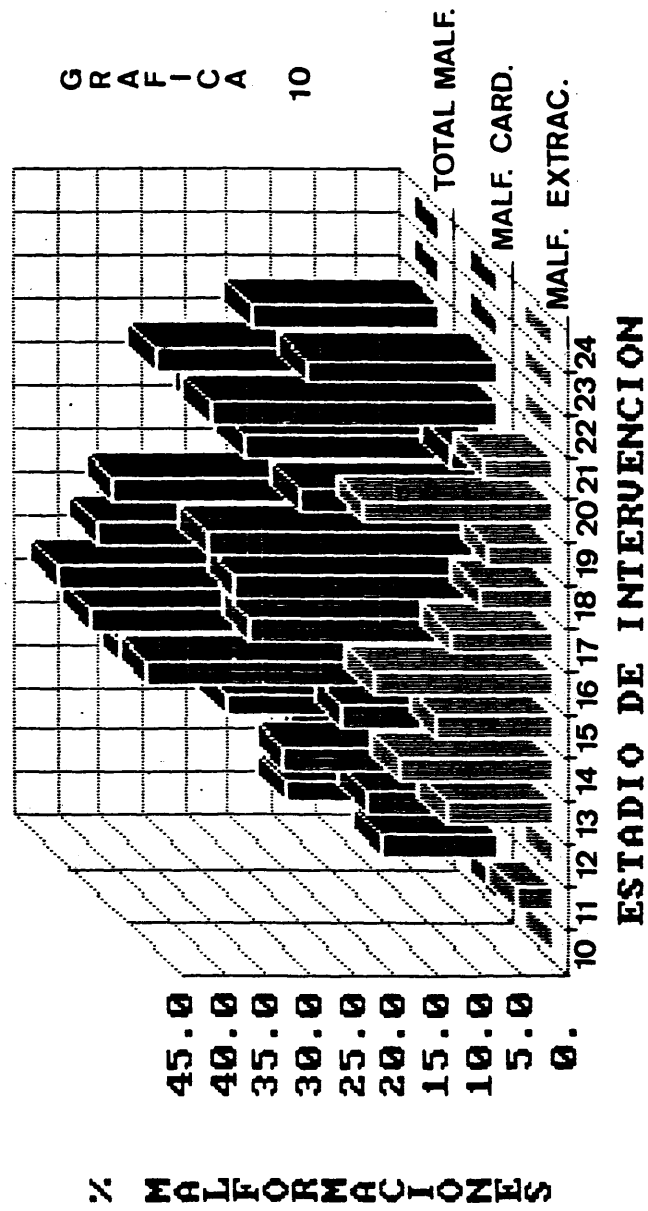
Media=24,3480 ; Desviación standard=15,2792

Varianza=233,4539 ; Coeficiente de variación=62,7534

Error standard de la media=3,9451

La hipótesis de que la muestra estudiada es normal no puede mantenerse para un nivel de confianza del 95% .

## TOTAL MALFORMACIONES/EST. INTERUENCION



$$y = a \cdot e^{-b(x-m)^2}$$

Como ya vimos al explicar la Gráfica 6, los valores de  $a$  y  $b$  pueden calcularse según la desviación standard:

$$a = \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}}$$

y

$$b = \frac{1}{2 \cdot \sigma^2}$$

Si sustituimos nuestros datos obtenemos:

$$y = 0,0505 \cdot e^{-0,0080(x-8,5986)^2}$$

En la Tabla V analizamos la asociación de malformaciones entre sí considerando los 317 embriones seleccionados. En la primera parte figuran las probabilidades de que un embrión determinado presente una, dos, tres o cuatro malformaciones cardíacas ( $A_1, A_2, A_3$  y  $A_4$ ) calculadas a partir de la frecuencia con que hemos encontrado dichas malformaciones. A continuación, expresamos la probabilidad de que un embrión presente una, dos

T A B L A V

## ASOCIACION DE MALFORMACIONES

Embriones con 1 malf. cardíaca ( $A_1$ )	Total embriones	Frecuencia	Probabilidad
" 2 " ( $A_2$ )	61	19,24	0,1924
" 3 " ( $A_3$ )	16	5,05	0,0505
" 4 " ( $A_4$ )	5	1,58	0,0158
" 3 " ( $A_3$ )	3	0,95	0,0095
			$P(A) = 0,2682$
-----			
Embriones con 1 malf. extracard. ( $B_1$ )	29	9,15	0,0915
" 2 " ( $B_2$ )	5	1,58	0,0158
" 3 " ( $B_3$ )	2	0,63	0,0063

166

 $P(B) = 0,1136$ Probabilidad de que teniendo una malformación cardíaca ( $A_1$ ) tenga una o más extracardíacas (B):

$$P(A_1/B) = \frac{P(A_1) \cdot P(B/A_1)}{P(B)} ; P(B/A_1) = 0,0833 ; P(A_1/B) = 0,1411.$$

En el caso de dos, tres o cuatro malformaciones cardíacas:

$$\begin{aligned} P(B/A_2) &= 0,0185 ; P(A_2/B) = 0,0082 \\ P(B/A_3) &= 0 ; P(A_3/B) = 0 \\ P(B/A_4) &= 0,0185 ; P(A_4/B) = 0,0015 \end{aligned}$$

Probabilidad de que teniendo una malformación extracardíaca (B) tenga una o más cardíacas:

$$P(B/A) = \frac{P(B) \cdot P(A/B)}{P(A)} = \frac{0,1136 \cdot 0,1508}{0,2682} = 0,0639.$$

o tres malformaciones extracardiacas y lo denominamos de forma global suceso B. En ningún caso hemos encontrado un embrión con más de cuatro malformaciones cardíacas o más de tres extracardiacas.

Calculamos la probabilidad que tiene un embrión que presentando una, dos, tres o cuatro malformaciones cardíacas ( $A_1, A_2, A_3, A_4$ ) tenga una o más malformaciones extracardiacas (B) según la siguiente expresión:

$$P(A/B) = \frac{P(A) \cdot P(B/A)}{P(B)}$$

También deducimos la probabilidad que tiene un embrión que presentando una malformación extracardiaca (B) tenga una o más cardíacas según la expresión inversa:

$$P(B/A) = \frac{P(B) \cdot P(A/B)}{P(A)}$$

Observando los datos obtenidos (Tabla V) podemos comprobar que la probabilidad de que se asocie una malformación cardíaca con una o más extracardiacas es más frecuente que la aparición aislada de una malformación extracardiaca. La probabilidad de que se asocie una malformación extracardiaca con una o más cardíacas es más

frecuente que la aparición de dos malformaciones cardíacas y menos que la asociación de una malformación cardíaca con una o más extracardiácas. Los dos grupos de malformaciones son fenómenos dependientes por lo que es fácil explicar la asociación de una malformación cardíaca con otra extracardiaca.

A continuación, vamos a realizar un análisis de correlación entre supervivencia y los dos grupos de malformaciones considerando aisladamente malformaciones cardíacas y extracardiácas así como su suma. Para ello, en la Tabla VI exponemos los valores porcentuales de supervivencia y de los dos grupos de malformaciones consideradas así como su suma en función del estadio de intervención.

En la Tabla VII figuran los datos correspondientes al análisis de correlación entre supervivencia y malformaciones cardíacas. Del análisis de la varianza se deduce una  $F_0 = 4,2079$  que para 28 grados de libertad supone un  $\alpha$  inferior a 0,01. Sin embargo, la distribución de Student con  $t=1,8649$  para 28 grados de libertad no es significativa.

La Tabla VIII muestra los datos pertenecientes al análisis de correlación entre supervivencia y malformaciones extracardiácas. Del análisis de la varianza se deduce una  $F_0 = 2,8765$  que para 28 grados de libertad supone un  $\alpha$  superior a 0,01 e inferior a 0,05. Sin embargo, la distribución de Student con  $t=3,4563$  para 28 grados de libertad es

T A B L A V I  
ANALISIS DE CORRELACION SUPERVIVENCIA / MALFORMACIONES

ESTADIO INTERV.	SUPERVIVENCIA %	MALF. % CARDIACAS.	MALF. % EXTRACARD.	MALF. % TOTALES.
10-10.5	100	0	0	0
11-11.5	73.08	13.64	4.55	18.18
12-12.5	58.82	15.38	0	15.38
13-13.5	21.74	25	12.50	25
14-14.5	14.63	18.18	18.18	36.36
15-15.5	29.27	40.91	13.64	40.91
16-16.5	44.12	28.95	21.05	44.74
17-17.5	30.56	30.87	12	40
18-18.5	26.49	33.82	8.82	38.24
19-19.5	7.69	23.08	7.69	23.08
20-20.5	14.81	5.56	22.22	27.78
21-21.5	7.69	33.33	8.33	33.33
22-22.5	53.85	22.22	0	22.22
23-23.5	29.57	0	0	0
24-24.5	0	0	0	0



## T A B L A V I I

## ANALISIS DE CORRELACION SUPERVIVENCIA / MALFORMACIONES CARDIACAS

NRº CASOS=15  
NRº VARIABLES=4

	MEDIA	DESV. ST.	I.S.M.
SUPERVIVENCIA	64.0880	27.4511	7.3386
MALF. CARDIACAS	19.3627	13.3622	5.1602

$$r = -0.2273$$

F DE SNEDECOR    N=23    ;     $F_0 = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2} = 4.2079$  ;  $\alpha (0.01)$

t DE STUDENT    N=23    ;     $t = 1.8649$  ; NO SIGNIFICATIVA

## T A B L A V I I I

## ANALISIS DE CORRELACION SUPERVIVENCIA / MALFORMACIONES EXTRACARDIACAS

NRG. CASOS=15  
NRG. VARIABLES=4

	MEDIA	DESV. ST.	E.S.M.
SUPERVIVENCIA	34.0880	27.4511	7.3366
MALF. EXTRACARD.	9.5987	7.6963	2.1088

$R = -0.3779$

F DE SNEDECOR : N=28 ;  $F_0 = 2.8765$  ;  $0.05 < \alpha < 0.01$

t DE STUDENT : N=28 ;  $t = 3.4563$  ;  $0.01 > p > 0.001$   
PUEDE SER SIGNIFICATIVA

probablemente significativa aunque no es concluyente.

Finalmente, en la Tabla IX se observan los datos correspondientes al análisis de correlación entre la supervivencia y el total de malformaciones. Del análisis de la varianza se deduce una  $F_0 = 3,2279$  que para 28 grados de libertad supone un  $\alpha$  superior a 0,01 e inferior a 0,05. La distribución de Student con  $t = 1,2007$  para 28 grados de libertad no resulta significativa.

El análisis de la varianza y la distribución de Student aplicados a las relaciones entre supervivencia y aparición de malformaciones (bien sean cardíacas, extracardiacas o la suma de ambas) nos indica que se trata de fenómenos relacionados pero no estrechamente.

En los tres casos, el coeficiente de correlación,  $r$ , es muy bajo no permitiendo el ajuste a una recta de regresión.

En la Tabla X representamos las malformaciones cardíacas, extracardiacas y total de malformaciones en valores absolutos y porcentuales (columnas 2 a 7) en relación a las diferentes técnicas de intervención (columna 1). Se deduce con facilidad que la mayor proporción de malformaciones corresponde a las intervenciones  $D_3$  e  $I_2$  que, por otro lado, son técnicas bien toleradas según veíamos al analizar la supervivencia y los parámetros de desarrollo.

## T A B L A I X

## ANALISIS DE CORRELACION SUPERVIVENCIA / TOTAL DE MALFORMACIONES

NRO. CASOS=16  
NRO. VARIABLES=4

	EDIA	DECI. ST.	EDIA
SUPERVIVENCIA	34.0888	27.4511	7.6366
MALF. CARDIACAS	34.3488	25.1782	9.1706

$r = 0.1272$

$\chi^2$  DE FREEDOM 1 D.F.  $\chi^2 = 0.1272$   $10.000 \times 0.001$

$t$  DE STUDENT  $n=16$   $t = 1.1272$  NO SIGNIFICATIVA

T A B L A X  
DISTRIBUCION DE MALFORMACIONES / TIPO DE INTERVENCION

TIPO DE INTERV.	MALF. CARDIACAS		MALF. EXTRACARD.		TOTAL MALF.	
	N. MALF.	%	N. MALF.	%	N. MALF.	%
C	0	0	0	0	0	0
D1	4	2.42	3	1.82	7	4.24
D2	3	1.82	1	1.61	4	3.43
D3	53	32.12	21	12.73	74	44.85
D4	6	3.64	1	1.61	7	5.25
I1	5	3.03	1	1.61	6	4.64
I2	39	23.64	16	9.70	55	33.34
I3	3	1.82	2	1.21	5	3.03
I4	7	4.24	0	0	7	4.24

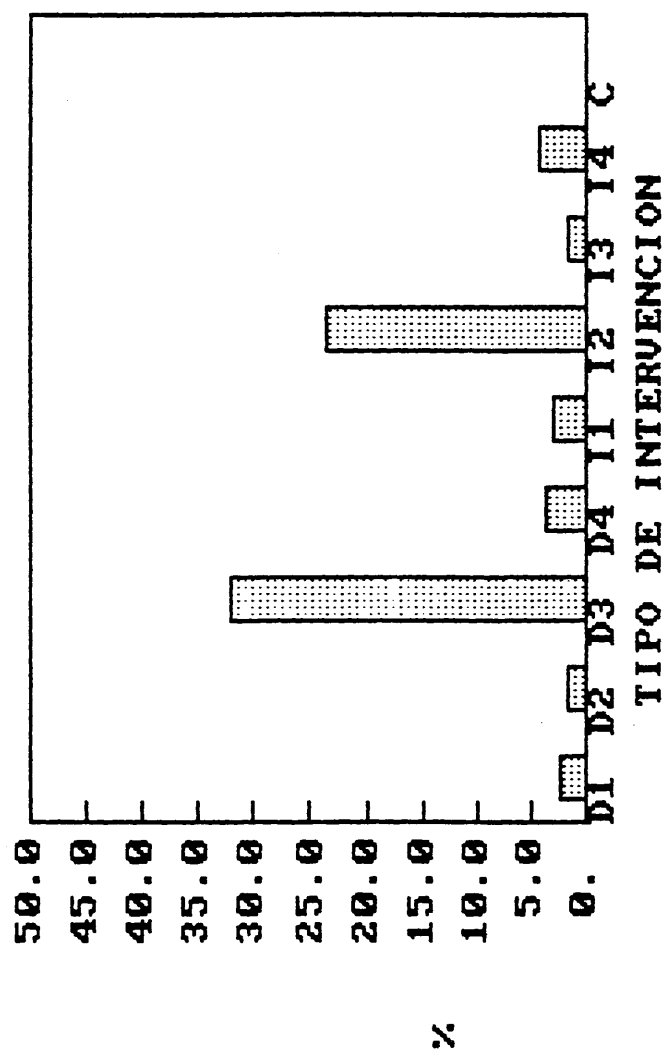
En la Gráfica 11 se expresa mediante un diagrama de barras la distribución de malformaciones cardíacas según el tipo de intervención mientras que en la Gráfica 12 se representan las malformaciones extracardiacas y en la Gráfica 13 el total de malformaciones. Por último, en la Gráfica 14 se representa de forma agrupada los datos expuestos en las Gráficas anteriores para su mejor análisis conjunto. En todas ellas comprobamos que la mayor proporción de malformaciones corresponde a las técnicas  $D_3$  e  $I_2$ , como veíamos anteriormente.

Las Tablas XI y XI bis representan las modificaciones de desarrollo inducidas por cada tipo de intervención (columna 1). En la columna 2 figura el tiempo total de incubación (HTI= Horas preintervención + Horas postintervención) agrupado en marcas de clase; en la columna 3 aparece el estadio final expresado en horas mientras que la columna 4 muestra la diferencia de desarrollo en estadios de Hamburger-Hamilton (el signo indica la pérdida o ganancia con respecto al estadio teórico esperado), y en la columna 5 se presenta la longitud vértex-cóccix en milímetros. Para cada intervención hemos calculado los valores de media aritmética ( $m$ ) y desviación standard ( $\sigma$ ).

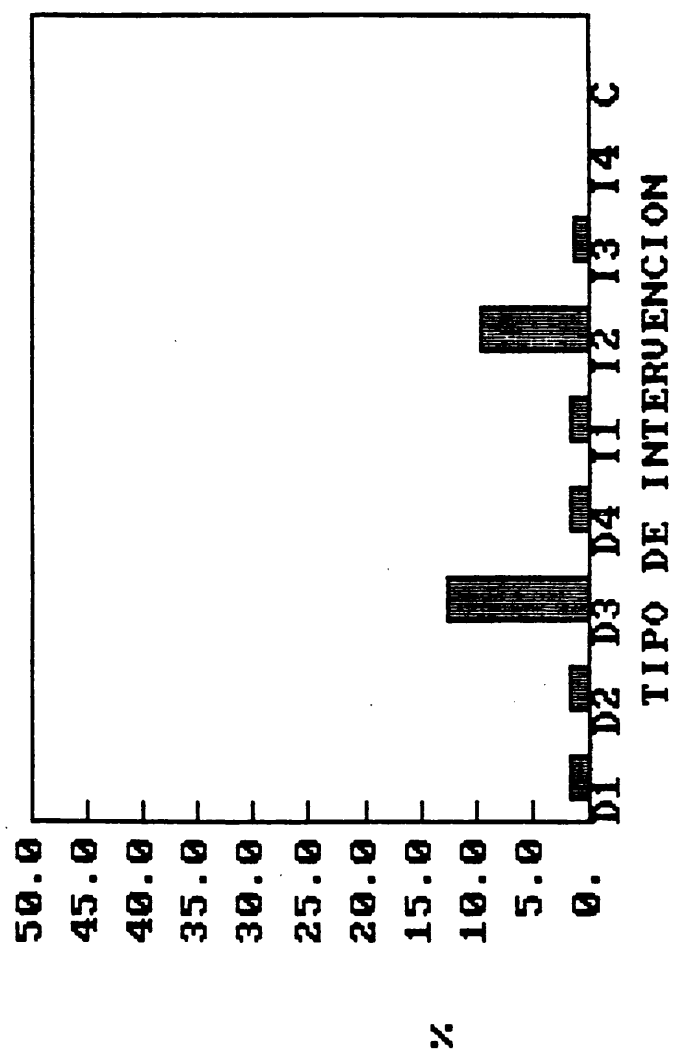
A partir de los datos comentados en las Tablas XI y XI bis dividimos la longitud vértex-cóccix (mms) entre el estadio obtenido (horas) de lo que se deduce un nuevo parámetro al que denominamos "Crecimiento Medio" y que para cada intervención fue:

GRAFICA 11

DISTRIBUCION M. CARD./TIPO INTERUENCION



# DISTRIBUCION M. EXTRAC./TIPO INTERUEN.

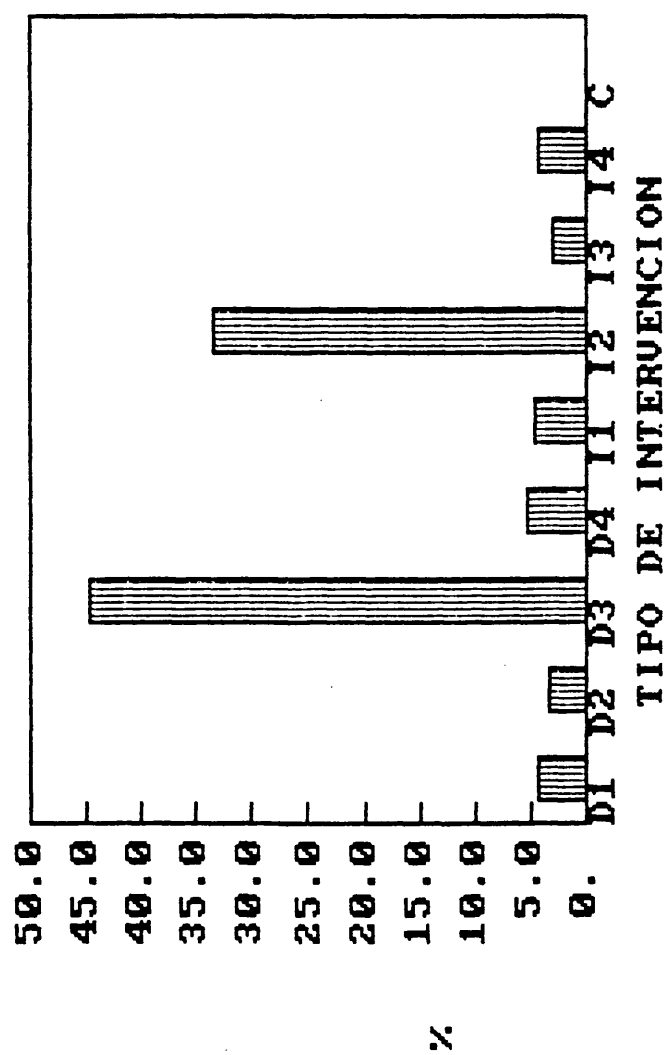


GRAFICA 12

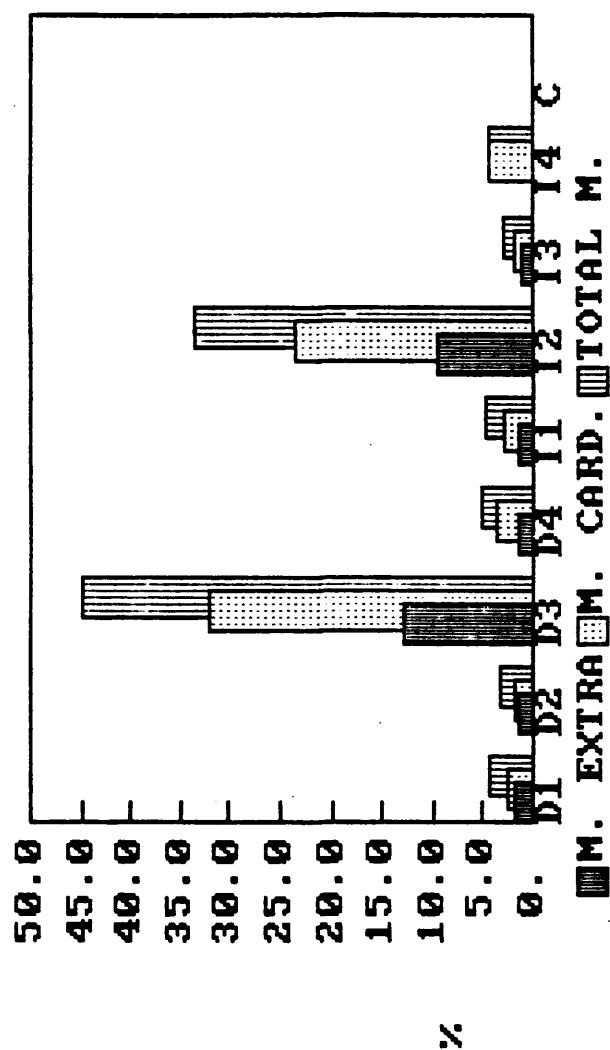


GRAFICA 13

DISTRIBUCION TOTAL M./TIPO INTERUENCION



# DISTRIBUCION MALFORMACIONES/TIPO INTERU



GRAFICA

14

179

TIPO DE INTERUENCION

## T A B L A X I

H. T. I. - ESTADIO OBTENIDO - PERDIDA DE DESARROLLO - LONGITUD V. C. /  
/ TIPO DE INTERVENCION

TIPO DE INTERV.	H. T. I.	ESTADIO OBTENIDO (HORAS)	PERDIDA DE DESARROLLO	LONGITUD V. C.
C	60-100	74	-0.25	9
	101-140	129 $m=146$	0.62 $m=-0.18$	12.25 $m=15.91$
	141-180	171 $\sigma=58.29$	0.05 $\sigma=0.36$	17.42 $\sigma=6.97$
	181-220	210	0.30	25
	221-260	-	-	-
D 1	60-100	78	-3	8.25
	101-140	111 $m=137.25$	-1.75 $m=-3.12$	10.50 $m=14.68$
	141-180	- $\sigma=67.54$	- $\sigma=3.12$	- $\sigma=6.66$
	181-220	126	-7.50	17
	221-260	234	-0.25	23
D 2	60-100	-	-	-
	101-140	132 $m=154$	-0.20 $m=-0.81$	9.50 $m=14.58$
	141-180	144 $\sigma=28.35$	-1.75 $\sigma=0.82$	14.25 $\sigma=5.25$
	181-220	186	-0.50	20
	221-260	-	-	-
D 3	60-100	88	-0.40	7.23
	101-140	105 $m=150.60$	-1.05 $m=-0.42$	9.75 $m=16.14$
	141-180	156 $\sigma=54.09$	-0.22 $\sigma=0.39$	16.25 $\sigma=7.84$
	181-220	188	-0.47	21.50
	221-260	216	0	26
D 4	60-100	-	-	-
	101-140	108 $m=144$	-1.38 $m=-1.18$	11.75 $m=15.50$
	141-180	126 $\sigma=47.62$	-2 $\sigma=0.93$	12.50 $\sigma=5.85$
	181-220	198	-0.16	22.25
	221-260	-	-	-

## T A B L A X I B I S

H. T. I. - ESTADIO OBTENIDO - PERDIDA DE DESARROLLO - LONGITUD V. C.  
/ TIPO DE INTERVENCION

TIPO DE INTERV.	H. T. I.	ESTADIO OBTENIDO (HORAS)	PERDIDA DE DESARROLLO	LONGITUD V. C.
C	60-100	74	-0.25	9
	101-140	129 $m=146$	0.62 $m=0.18$	12.25 $m=15.9$
	141-180	171 $\sigma=58.29$	0.05 $\sigma=0.36$	17.42 $\sigma=6.97$
	181-220	210	0.30	25
	221-260	-	-	-
I 1	60-100	77	-1	8.75
	101-140	114 $m=112.66$	-1.12 $m=-1.16$	10.38 $m=11.37$
	141-180	147 $\sigma=35.01$	-1.37 $\sigma=0.18$	15 $\sigma=3.42$
	181-220	-	-	-
	221-260	-	-	-
I 2	60-100	80.50	-0.92	8
	101-140	116 $m=155.10$	-0.84 $m=-0.35$	9.15 $m=17.03$
	141-180	153 $\sigma=58.78$	-0.41 $\sigma=0.58$	16.50 $\sigma=8.64$
	181-220	210	-0.08	24.50
	221-260	216	0.50	27
I 3	60-100	96	4.50	6
	101-140	108 $m=146.40$	-2.50 $m=0.03$	10.50 $m=15.38$
	141-180	132 $\sigma=49.58$	-2 $\sigma=2.76$	15 $\sigma=7.44$
	181-220	186	0.16	21.33
	221-260	210	0	24
I 4	60-100	96	0	7
	101-140	96 $m=130.50$	-2.40 $m=-2.35$	8.35 $m=13.84$
	141-180	174 $\sigma=40.51$	-1 $\sigma=2.62$	18 $\sigma=7.32$
	181-220	-	-	-
	221-260	156	-6	22

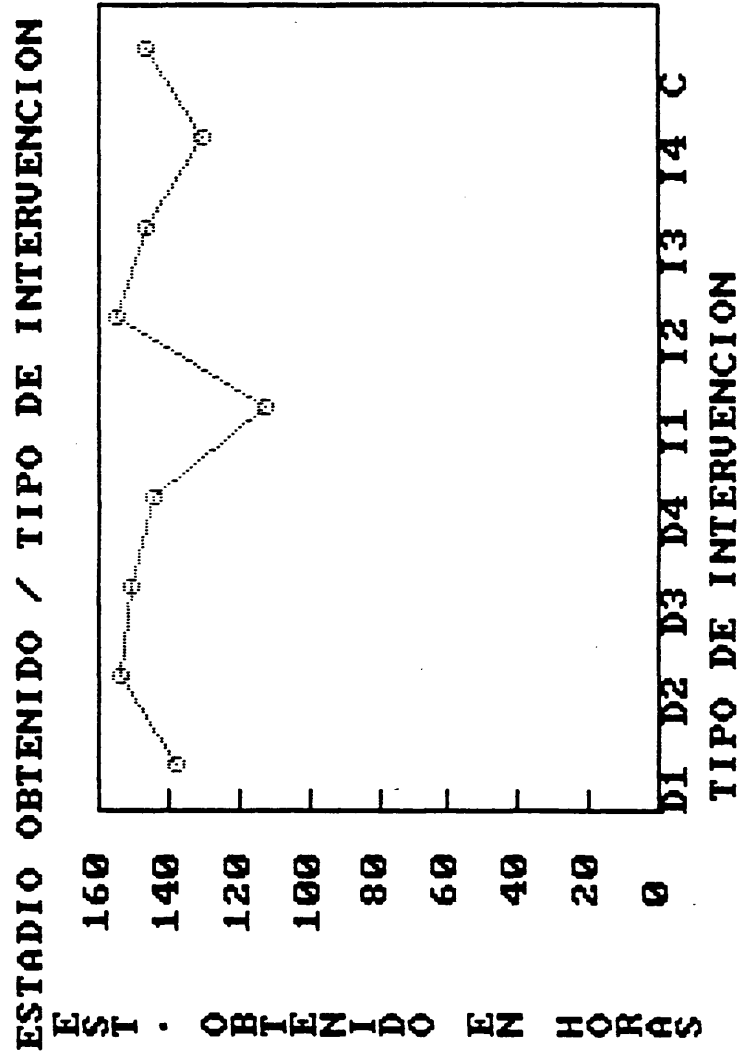
Control.....	0,109
D <sub>1</sub> .....	0,106
D <sub>2</sub> .....	0,095
D <sub>3</sub> .....	0,107
D <sub>4</sub> .....	0,108
I <sub>1</sub> .....	0,100
I <sub>2</sub> .....	0,109
I <sub>3</sub> .....	0,105
I <sub>4</sub> .....	0,103

Observamos un Crecimiento Medio similar a los controles en los grupos D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub> e I<sub>2</sub> independientemente del estadio en que han sido intervenidos y en función de las horas de reincubación. Como hemos visto anteriormente D<sub>4</sub> presenta una pérdida de desarrollo mayor a D<sub>3</sub> e I<sub>2</sub>. Sin embargo, considerando el resto de los parámetros que significan desarrollo, sólo los embriones intervenidos por las técnicas D<sub>3</sub> e I<sub>2</sub> se asemejan al desarrollo de los controles para un tiempo de incubación determinados.

En las Gráficas 15, 16 y 17, en las que representamos la media aritmética del estadio obtenido en horas, pérdida de desarrollo y longitud vértex-cóccix para cada tipo de intervención, podemos comprobar cómo las técnicas D<sub>3</sub> e I<sub>2</sub> son las que más se asemejan al grupo control. En la técnica I<sub>3</sub> prácticamente no se produce pérdida de desarrollo pero resulta ser tan agresiva que sólo permite la supervivencia de los

G R A F I C A

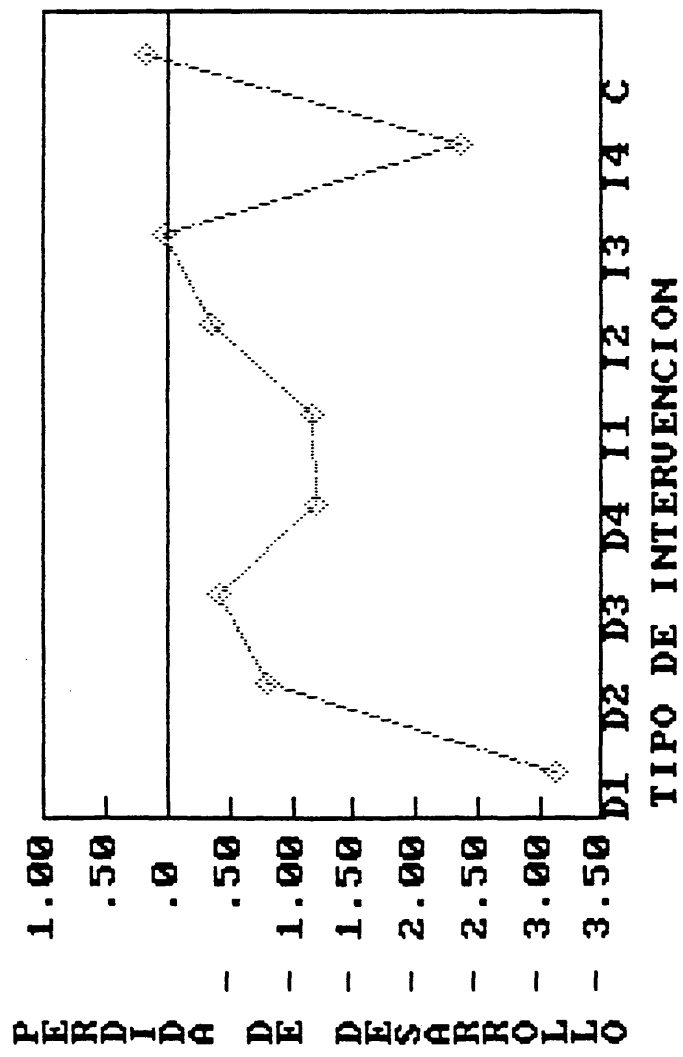
15



## G R A F I C A

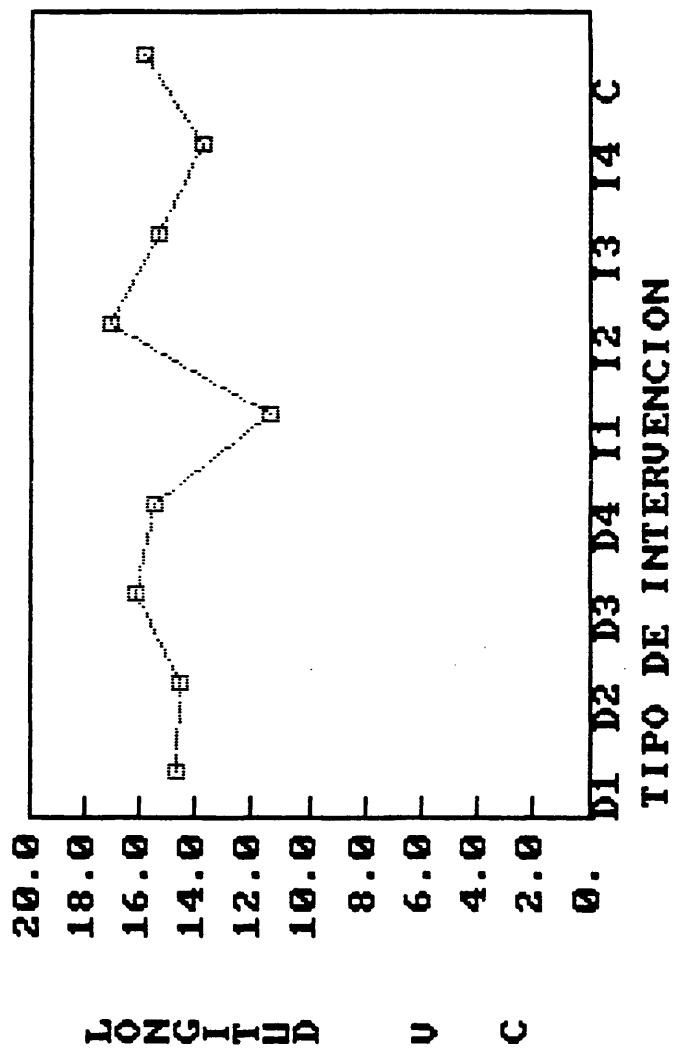
16

PERDIDA DESARROLLO/TIPO DE INTERUENCION



G R A F I C A 17

LONGITUD U-C / TIPO DE INTERUENCION





embriones estadísticamente resistentes.

Podemos concluir que la elección a priori de las técnicas de intervención  $D_3$  e  $I_2$ , por sus mejores resultados queda corroborada con los datos estadísticos.

ESTUDIO MORFOLOGICO

ABREVIATURAS DE LA ICONOGRAFIA

A o AD: Aorta.

AD: Aurícula derecha.

AI o AS: Aurícula izquierda.

AP: Septum aorto-pulmonar.

AT: Aurícula.

B: Bulbus.

C: Arteria coronaria.

CA: Cresta conal anterior.

CAV: Canal atrio-ventricular.

CDSV: Cuerno derecho del seno venoso.

CI: Cojinete atrio-ventricular inferior.

CP: Cresta conal posterior.

CS: Cojinete atrio-ventricular superior.

4: Cuarto arco aórtico.

4D o IVD: Cuarto arco aórtico derecho.

4I o IVS: Cuarto arco aórtico izquierdo.

D: Diencefalo.

E: Esófago.

H: Hígado.

IA: Infundíbulo aórtico.

IP: Infundíbulo pulmonar.

L: Lengua.

MS: Miembro superior.

OD: Ojo derecho.

OI: Ojo izquierdo.

P o TP: Arteria pulmonar.

PD: Arteria pulmonar derecha.

PI: Arteria pulmonar izquierda.

RP: Rodete bulbar parietal (derecho).

RS: Rodete bulbar septal (izquierdo).

SA: Sigmoides aórtica.

SI: Septum interventricular.

SP: Sigmoides pulmonar.

6: Sexto arco aórtico.

6D: Sexto arco aórtico derecho.

6I: Sexto arco aórtico izquierdo.

T: Tráquea.

TA: Truncus arteriosus.

TI: Septum inter-atrial.

3: Tercer arco aórtico.

3D o IIID: Tercer arco aórtico derecho.

3I o IIIS: Tercer arco aórtico izquierdo.

V: Ventrículo.

VD: Ventrículo derecho.

VI o VS: Ventrículo izquierdo.

VP: Vena pulmonar.

MALFORMACIONES CARDIACAS

1.- MALFORMACIONES AURICULARES

1.1.- Alteraciones en la diferenciación de la pared auricular: LV-408.

1.2.- Conexión anómala de vena pulmonar con aurícula derecha: LV-489.

## MALFORMACIONES CARDIACAS

### 1. MALFORMACIONES AURICULARES

Este grupo de malformaciones representa un 1,21% de todas las malformaciones obtenidas y tan sólo un 0,63% sobre el total de embriones fijados.

#### 1.1.-Alteraciones en la diferenciación de la pared auricular.

El embrión más representativo de este grupo es el LV-408 (láminas 1 y 2) que se fijó en un estadio 25 H.H., tras haber sido intervenido en el estadio 17 H.H. mediante cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos.

En la figura 4 de la lámina 1 y en las figuras 1 a 6 de la lámina 2 puede observarse el enorme grosor de la pared de la aurícula izquierda si se compara con la aurícula derecha, ofreciendo el aspecto de hipertrofia e hiperplasia muscular. Al mismo tiempo, la luz queda reducida a lo largo de todos los cortes. El septum interatrial aparece plegado sobre si mismo

LAMINA 1

LV-408 (Estadio 25 H.H.)

Figura 1.- Corte transversal en el que se aprecia el trayecto del tercer arco aórtico, truncus arteriosus, bulbus cordis y porción trabeculada ventricular (4x).

Figura 2.- Corte transversal más inferior que el de la figura 1 donde aparece el cuarto arco aórtico derecho y las estructuras mencionadas en la figura anterior (4x).

Figura 3.- Sección más inferior en la que destaca el escaso desarrollo de la trabeculización ventricular (4x).

Figura 4.- Corte a través de las dos aurículas, en el que puede observarse las diferencias con respecto a la evolución de la pared y cavidad, así como el desarrollo incompleto del septum ventricular muscular (4x).





LAMINA 2

LV-408 (Estadio 25 H.H.)

Figura 1.- Sección a nivel del cojinete atrio-ventricular superior (10x).

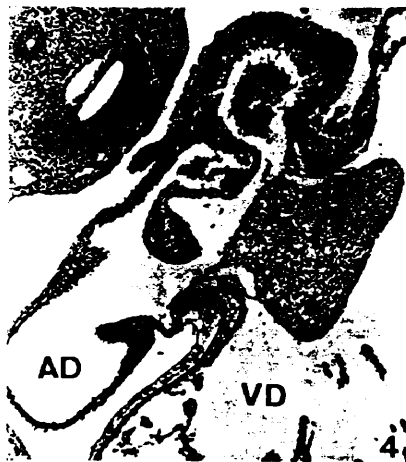
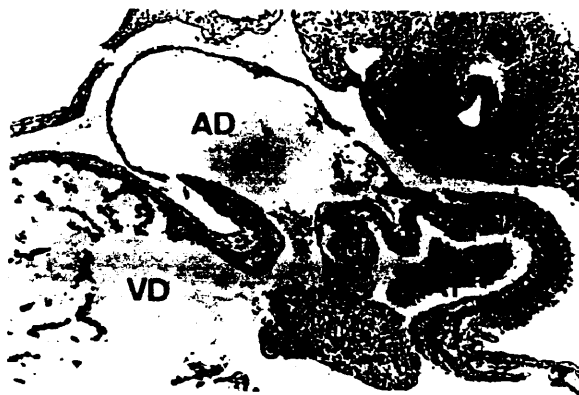
Figura 2.- Corte a nivel de la fusión de los cojinetes atrio-ventriculares superior e inferior donde llama la atención la diferencia de calibre entre ambos orificios auriculo-ventriculares (10x).

Figura 3.- Corte más inferior al anterior en el que se aprecia la comunicación existente entre aurícula izquierda y ventrículo derecho por debajo del septum interatrial (10x).

Figura 4.- Sección a nivel del cojinete atrio-ventricular inferior (10x).

Figura 5.- Sección más inferior a nivel del cojinete atrio-ventricular inferior, en la que se sigue observando la diferencia de grosor entre las paredes de las dos aurículas (10x).

Figura 6.- Corte a nivel de la fusión del septum interatrial con el cojinete atrio-ventricular inferior (10x).



(lámina 2: figuras 1 a 6) dando paso, por debajo de su porción inferior y hacia el ventrículo derecho, a la sangre que procede de la aurícula izquierda y encuentra un obstáculo para llegar al ventrículo izquierdo por el orificio aurículo-ventricular izquierdo que presenta unas dimensiones extraordinariamente reducidas (lámina 2: figuras 2,3 y 4).

En la génesis de la reducción del orificio aurículo-ventricular izquierdo puede influir la fusión de los cojinetes atrio-ventriculares que se produce muy precozmente en este embrión (lámina 2: figuras 2 y 3).

Otro aspecto importante que presenta el corazón de este embrión es la escasa y anómala trabeculización de sus ventrículos (lámina 1: figuras 1 a 4) que afecta, incluso, al desarrollo del septum ventricular muscular (lámina 1: figura 4). En la lámina B: figuras 5 y 6, correspondientes a embriones controles de los estadios 20 y 24 H.H. respectivamente, puede observarse el desarrollo de una trabeculización ventricular normal que puede ser comparada con el embrión que nos ocupa.

#### 1.2.- Conexión anómala de vena pulmonar con aurícula derecha.

Hemos observado la desembocadura anómala de la vena pulmonar en la aurícula derecha en el embrión LV-489 (lámina 23), que comentaremos más adelante por su malformación bulbar. Este embrión, fijado en el estadio 32 H.H., fue intervenido mediante cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos en el estadio 17 de H.H.

En las figuras 3 y 4 de la lámina 23 puede observarse cómo se produce dicha desembocadura de la vena pulmonar en la aurícula derecha, próxima al septum interatrial.

2.- MALFORMACIONES DEL CANAL ATRIO-VENTRICULAR

2.1.- Alteraciones en la cronología de la fusión de los cojinetes atrio-ventriculares: LV-12; LV-23; LV-24; LV-28; LV-32; LV-48; LV-159; LV-286; LV-325; LV-386; LV-405; LV-408; LV-490; LV-498; LV-564.

2.2.- Falta de unión del septum primum con los cojinetes atrio-ventriculares: LV-267.

2.3.- Persistencia de comunicación entre aurícula derecha y ventrículo izquierdo: LV-575.

2.4.- Disposición anómala de los cojinetes atrio-ventriculares: LV-56; LV-414; LV-490.

## 2. MALFORMACIONES DEL CANAL ATRIO-VENTRICULAR

Las malformaciones obtenidas a este nivel representan un 12,11% sobre el total de malformaciones y un 6,30% sobre el total de embriones fijados.

### 2.1.- Alteraciones en la cronología de la fusión de los cojinetes atrio-ventriculares.

Este grupo es el más abundante dentro de las malformaciones que afectan al canal atrio-ventricular. Al lado del defecto que hemos descrito en el embrión LV-408 (láminas 1 y 2), en el que los cojinetes se fusionan de forma precoz, el retraso en este proceso de fusión constituye uno de los hallazgos más numerosos.

A continuación vamos a ver algunos ejemplos de alteración en la cronología de la fusión de los cojinetes atrio-ventriculares de forma aislada. Más adelante, veremos este defecto formando parte también de malformaciones más complejas a otros niveles.

En condiciones normales, hemos visto cómo los cojinetes atrio-ventriculares se aproximan uno al otro a lo largo de los estadios 25-26 H.H. (lámina A: figuras 1 y 2) para unirse entre sí en los estadios 27-28 H.H. (lámina A: figuras 3, 4 y 5). A partir del estadio 28 pueden verse completamente unidos entre sí en los embriones normales (lámina A: figuras 6 y 7).

En la lámina 3 podemos observar las microfotografías del

LAMINA A

LV-140 (Estadio 25 H.H.)

Figura 1.- Zona de los cojinetes atrio-ventriculares en un embrión control (10x).

Figura 2.- Corte más inferior donde se observa la falta de fusión entre los cojinetes, normal según la edad del embrión (10x).

G-6 (Estadio 27 H.H.)

Figura 3.- Corte a nivel de la zona de los cojinetes atrio-ventriculares fusionados entre sí (4x).

Figura 4.- Corte más inferior en la que el cojinete inferior toma contacto con el septum ventricular (4x).

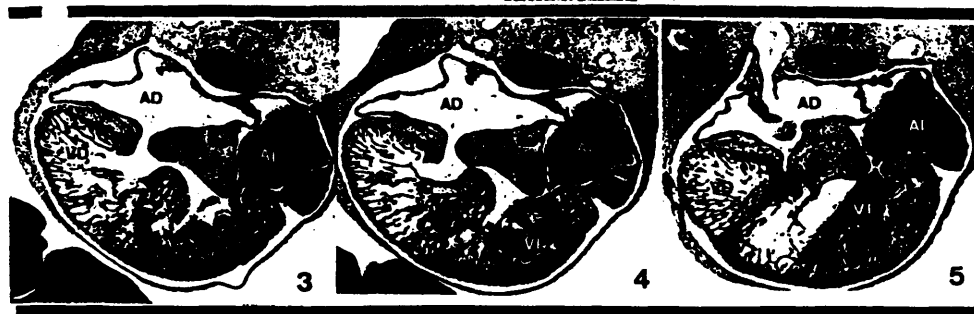
Figura 5.- Sección a través del cojinete atrio-ventricular inferior (4x).

LV-415 (Estadio 29 H.H.)

Figura 6.- Sección a través de los cojinetes atrio-ventriculares completamente fusionados entre sí (4x).

LV-25 (Estadio 29-30 H.H.)

Figura 7.- Imagen de los cojinetes atrio-ventriculares fusionados entre sí (10x).





LAMINA 3

LV-325 (Estadio 27 H.H.)

Figura 1.- Corte transversal a nivel de la zona de los cojinetes atrio-ventriculares y rodetes bulbares (4x).

Figura 2.- Corte más inferior a nivel de los cojinetes atrio-ventriculares donde puede observarse el paso de hematíes entre ellos (4x).

Figura 3.- Corte más inferior que el de la figura anterior en el que puede apreciarse el mayor calibre del defecto (4x).

Figura 4.- Sección más inferior en la que sigue aumentando el calibre del defecto de unión entre los cojinetes (4x).

Figura 5.- Corte a través del cojinete inferior (4x).



embrión LV-325 al que se cauterizaron y seccionaron los vasos vitelinos derechos en el estadio 17 H.H. y fue fijado en un estadio 27 H.H. Si bien en el corte más superior (figura 1) los cojinetes atrio-ventriculares se encuentran unidos, en cortes sucesivamente más inferiores (figuras 2 a 4) vemos la distancia importante que existe entre ellos.

Las microfotografías 1 a 3 de la lámina 4 pertenecen al embrión LV-386, fijado en un estadio 28 H.H., al que se cauterizaron y seccionaron los vasos vitelinos derechos a lo largo del estadio 17 H.H. En la figura 2 puede observarse cómo el cojinete inferior no se ha soldado todavía al superior, imagen que se repite en una serie de cortes hasta que, en una sección más inferior (figura 3), se aprecia la fusión de las dos estructuras.

En la lámina 5 podemos examinar las microfotografías pertenecientes a los embriones LV-23 (figuras 1, 2 y 3) y LV-24 (figuras 4 y 5), fijados en los estadios 28-29 y 29-30 H.H. respectivamente e intervenidos mediante ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos.

En las figuras 1 y 2 aparecen los cojinetes atrio-ventriculares unidos entre sí aunque adoptan una disposición anormal permitiendo que la aorta reciba sangre de la aurícula derecha. En la figura 3 podemos observar claramente la falta de fusión entre ambas estructuras que debería ser ya completa según la edad del embrión.

Las figuras 4 y 5 corresponden al embrión LV-24 en el que también podemos apreciar la falta de fusión de los cojinetes

LAMINA 4

LV-386 (Estadio 28 H.H.)

Figura 1.- Sección del corazón embrionario a nivel del cojinete atrio-ventricular superior y rodetes bulbares (4x).

Figura 2.- Corte más inferior a nivel de los cojinetes atrio-ventriculares donde se observa la falta de fusión entre ellos (10x).

Figura 3.- Imagen de los cojinetes fusionados en un corte más inferior (4x).

LV-490 (Estadio 28 H.H.)

Figura 4.- Sección transversal a nivel de los cojinetes atrio-ventriculares y rodetes bulbares (4x).

Figura 5.- Corte más inferior para mostrar la relación del cojinete inferior con el septum ventricular (4x).

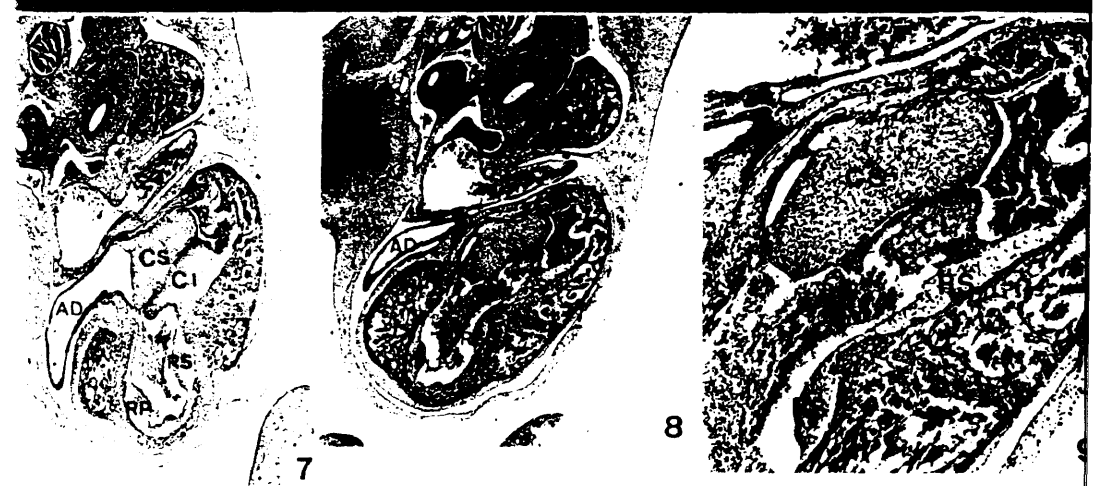
Figura 6.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).

LV-12 (Estadio 30 H.H.)

Figura 7.- Sección a nivel de los cojinetes atrio-ventriculares y rodetes bulbares (4x).

Figura 8.- Corte más inferior de estas estructuras (4x).

Figura 9.- Detalle de la figura anterior para apreciar el paso de hematies entre los cojinetes (10x).



LAMINA 5

LV-23 (Estadio 28-29 H.H.)

Figura 1.- Corte a nivel de la unión de los cojinetes atrio-ventriculares superior e inferior (4x).

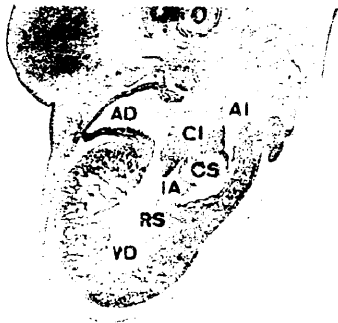
Figura 2.- Detalle de la figura anterior donde puede observarse la comunicación entre aurícula derecha e infundíbulo aórtico (10x).

Figura 3.- Corte más inferior en el que se aprecia la falta de fusión de ambos cojinetes (4x).

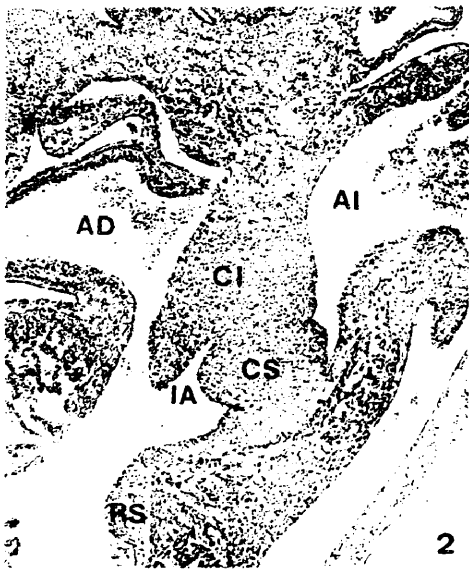
LV-24 (Estadio 29-30 H.H.)

Figura 4.- Sección a nivel de la zona de los cojinetes atrio-ventriculares superior e inferior sin fusionar (4x).

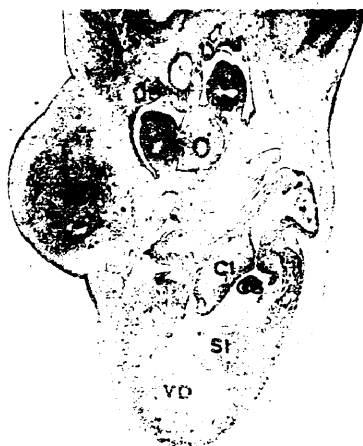
Figura 5.- Detalle a mayor aumento de la figura anterior (10x).



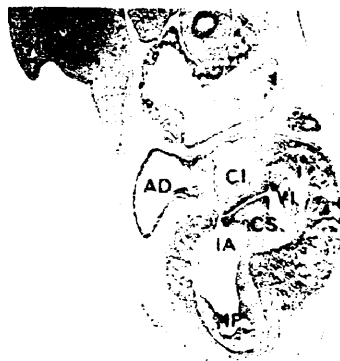
1



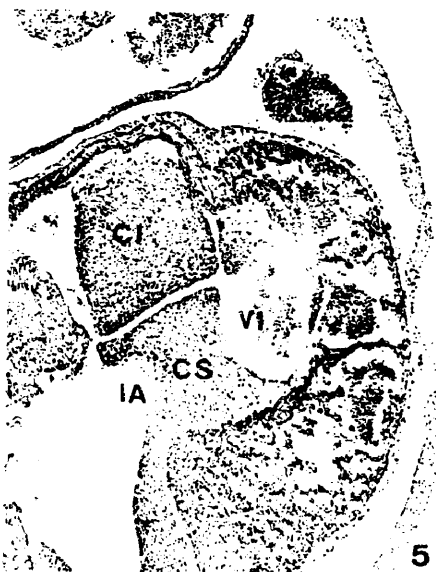
2



3



4



5

en un estadio superior. De forma análoga, el infundíbulo aórtico recibe sangre de la aurícula derecha y ambos infundíbulos, aórtico y pulmonar, se encuentran en contacto por una comunicación muy amplia (figura 4).

En las figuras 7, 8 y 9 de la lámina 4 observamos la zona de los cojinetes atrio-ventriculares del embrión LV-12, al que se ligaron y seccionaron los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 16 H.H. y fue fijado en el estadio 30 H.H. Podemos observar cómo el retraso en la fusión de los cojinetes se hace más llamativo en las figuras 8 y 9 con paso de hematíes entre ambas estructuras.

#### 2.2.- Falta de unión del septum primum con los cojinetes atrio-ventriculares.

En este grupo incluimos una serie de embriones en los que el septum interatrial no se introduce entre los cojinetes atrio-ventriculares y cierra la porción auricular del canal atrio-ventricular, proceso que conduce a la fusión de estas estructuras a partir del estadio 28 H.H.

El embrión que describimos en el siguiente apartado presenta un amplio orificio entre el extremo del septum interatrial y los cojinetes atrio-ventriculares (lámina 6: figura 5).

#### 2.3.- Persistencia de comunicación entre aurícula derecha y ventrículo izquierdo.

En este apartado, y como hemos dicho más arriba, describimos el embrión LV-575 (lámina 6) fijado en un estadio



LAMINA 6

LV-575 (Estadio 26-27 H.H.)

Figura 1.- Macrofotografía del embrión por su cara anterior para observar la microftalmia izquierda (2x).

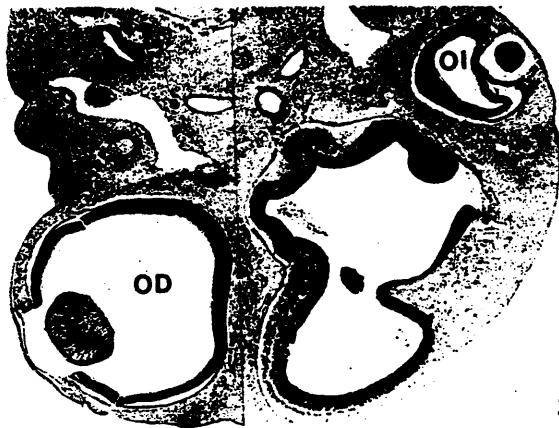
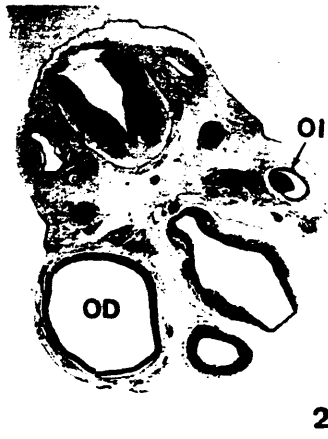
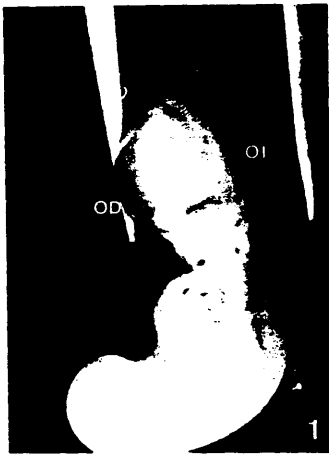
Figura 2.- Corte transversal de la cabeza embrionaria para observar la microftalmia izquierda e hipoplasia del sistema nervioso central (4x).

Figura 3.- Montaje fotográfico que muestra la disposición anómala de las estructuras del sistema nervioso central y microftalmia izquierda (10x).

Figura 4.- Sección a nivel de los cojinetes atrio-ventriculares (4x).

Figura 5.- Corte más inferior donde se observa la amplia separación entre el septum interatrial y los cojinetes y entre éstos últimos entre sí (10x).

Figura 6.- Corte más inferior para apreciar la fusión del tabique interatrial y el cojinete inferior (10x).



26-27 H.H. tras haber seccionado el área vascular derecha en un estadio 13-14 H.H. La falta de aproximación entre los cojinetes atrio-ventriculares determina la persistencia de comunicación entre aurícula derecha y ventrículo izquierdo (figuras 4 y 5). En un corte más inferior se interpone el septum interatrial en su unión con el cojinete inferior y queda cerrada dicha comunicación (figura 6).

Junto al defecto que hemos comentado, debemos destacar la microftalmia izquierda (lámina 6: figuras 1, 2 y 3) e hipoplasia del sistema nervioso central (lámina 6: figuras 2 y 3) que presenta este embrión.

#### 2.4.- Disposición anómala de los cojinetes atrio-ventriculares.

Las microfotografías 4, 5 y 6 de la lámina 4 corresponden al embrión LV-490 fijado en un estadio 28 H.H. tras haber sido sometido a cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos en el estadio 15-16 H.H. Podemos observar cómo los cojinetes atrio-ventriculares no se encuentran soldados aún (figura 4) y, en cortes más inferiores, el desplazamiento anómalo del cojinete inferior que se sitúa sobre el lado izquierdo del septum ventricular (figuras 5 y 6).

En otro embrión que comentaremos más adelante por su malformación bulbar, LV-56 (lámina 25), al que se ligaron y seccionaron los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 17-18 H.H. y fue fijado en el estadio 31-32 H.H., apreciamos una disposición del cojinete inferior sobre el vértice del septum

ventricular que nos parece también anormal (lámina 25: figuras 4 y 5).

En la lámina A (figuras 3, 4 y 6) observamos la disposición habitual del cojinete atrio-ventricular inferior sobre el septum ventricular y hacia su derecha.

3.- MALFORMACIONES VENTRICULARES

3.1.- Ausencia de septum ventricular: LV-122; LV-132;  
LV-277; LV-498.

3.2.- Disposición anómala del septum ventricular: LV-8;  
LV-242; LV-300.

3.3.- Trabeculización ventricular anómala: LV-53; LV-294;  
LV-328; LV-352; LV-354; LV-384; LV-408; LV-414; LV-456;  
LV-493; LV-593.

3.4.- Hipertrofia de la cavidad ventricular derecha:  
LV-477.

### 3. MALFORMACIONES VENTRICULARES

Las malformaciones ventriculares suponen el 11,51% de todas las malformaciones obtenidas y un 5,99% sobre el total de embriones fijados.

#### 3.1.-Ausencia de septum ventricular.

En este grupo incluimos una serie de embriones jóvenes (estadios 21-22 a 25-26 H.H.) en los que no objetivamos la aparición de un esbozo de septum ventricular muscular con claridad. Como ejemplo, podemos observar las figuras 1 y 2 de la lámina 11 en las que marcamos con las letras SI una estructura que quizás pueda ser el septum ventricular. Este embrión fue fijado en el estadio 21-22 H.H. tras haber seccionado el área vascular izquierda en el estadio 11-12 H.H. Por el contrario, en la lámina 8 mostramos las microfotografías pertenecientes a un embrión normal del estadio 21H.H. en las que el septum ventricular ya es una estructura perfectamente delimitada (figuras 1 y 2).

En un embrión mayor, LV-498 (láminas 7 y 8), no hemos objetivado aparición del septum ventricular. Este embrión, fijado en un estadio 25-26 H.H., fue intervenido mediante cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos en el estadio 16-17 H.H. Observamos una cavidad ventricular única que hemos denominado ventrículo derecho (VD) (lámina 8: figuras 1 y 5), sin que pueda apreciarse tabique ventricular y cavidad

**LAMINA B**

**LV-556 (Estadio 21 H.H.)**

Figura 1.- Corte frontal del corazón embrionario a nivel de los cojinetes atrio-ventriculares y septum ventricular (10x).

Figura 2.- Corte más inferior a nivel del cojinete inferior donde se sigue observando el septum ventricular (con flecha) (4x).

**6-22 (Estadio 24 H.H.)**

Figura 3.- Corte a nivel de los cojinetes atrio-ventriculares para apreciar la disposición del septum ventricular (10x).

**6-12 (Estadio 25 H.H.)**

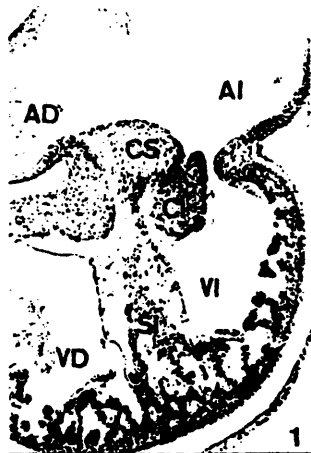
Figura 4.- Corte del corazón embrionario a nivel del cojinete inferior para apreciar el septum ventricular (10x).

**6-19 (Estadio 20 H.H.)**

Figura 5.- Sección de la cavidad ventricular con trabeculización normal (10x).

**6-22 (Estadio 24 H.H.)**

Figura 6.- Corte del corazón embrionario para apreciar la trabeculización normal de los ventrículos (10x).





LAMINA 7

LV-498 (Estadio 25-26 H.H.)

Figura 1.- Corte a nivel de los arcos aórticos (10x).

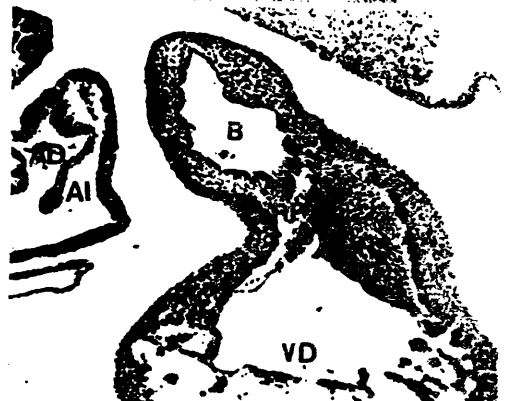
Figura 2.- Sección a través del truncus arteriosus (10x).

Figura 3.- Corte a nivel del bulbus cordis donde puede apreciarse la porción ectópica que corresponde a la parte trabeculada del ventrículo derecho (4x).

Figura 4.- Corte a nivel del bulbus cordis en el que se observa el relieve de los rodetes bulbares (10x).

Figura 5.- Corte a nivel de la zona de transición entre porción trabeculada y no trabeculada del bulbus cordis (10x).

Figura 6.- Corte a nivel de la zona de transición entre las aurículas y el ventrículo derecho o canal atrioventricular común (10x).



LAMINA 8

LV-498 (Estadio 25-26 H.H.)

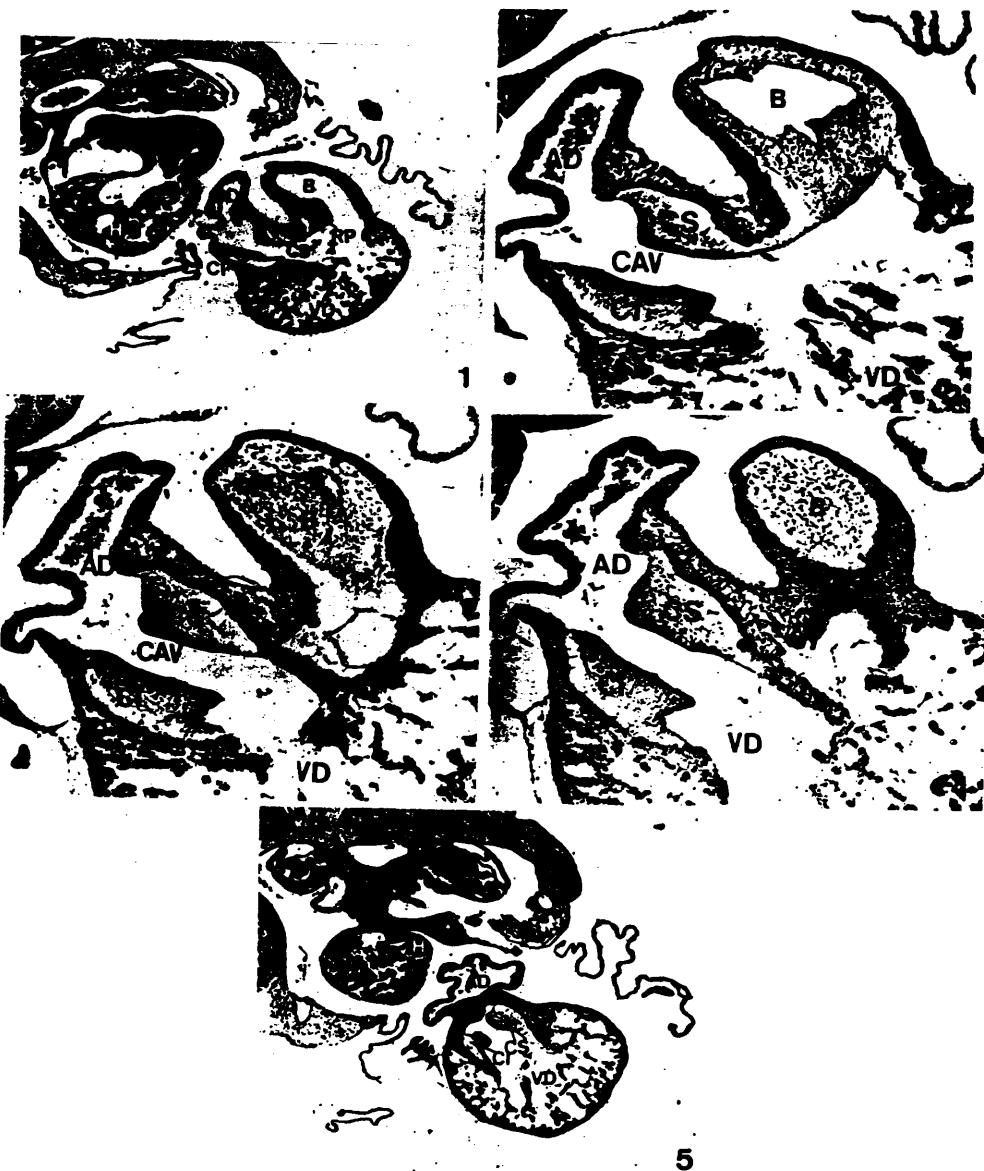
Figura 1.- Sección más inferior donde puede apreciarse la continuidad entre el rodete parietal y el cojinete superior (4x).

Figura 2.- Zona de transición entre aurícula derecha y ventrículo derecho (10x).

Figura 3.- Corte más inferior donde puede apreciarse el canal atrioventricular común (10x).

Figura 4.- Sección más caudal en la que se sigue observando la comunicación entre aurícula y ventrículo derechos (10x).

Figura 5.- Corte más inferior donde puede apreciarse el relieve de los cojinetes atrio-ventriculares (4x).



ventricular izquierda de forma clara. Junto a la ausencia de septum ventricular no observamos inicio de septación a nivel bulbar (lámina 7: figuras 4, 5 y 6; lámina 8: figuras 1 y 2) aunque en cortes anteriores si puede apreciarse tabicación a nivel de truncus arteriosus (lámina 7: figura 2). En las figuras 4, 5 y 6 de la lámina 7 observamos la luz común del bulbus cordis con sus rodetes parietal y septal. El rodete parietal se continúa con el cojinete atrio-ventricular superior (lámina 8: figura 1) que, junto con el cojinete inferior, delimitan un canal atrio-ventricular común (lámina 8: figuras 1 a 4). Las aurículas se ven separadas incompletamente por un septum primum atípico (lámina 7: figuras 4, 5 y 6). Junto a las malformaciones descritas, presentaba otras tales como ectopia cordis entre porción trabeculada y no trabeculada del bulbus cordis (lámina 7: figura 3), celosomia (lámina 7: figura 3; lámina 8: figuras 1 y 5) y raquisquisis.

### 3.2.- Disposición anómala del septum ventricular.

En otra serie de embriones, de estadios comprendidos entre el 23 y 25 H.H., hemos observado una disposición anómala del septum ventricular (lámina 9: figuras 2 a 5; lámina 10: figuras 1 a 5). En uno de ellos (lámina 9: figuras 4 y 5) se aprecian divertículos en la pared ventricular (señalado con flechas).

La lámina 8 (figuras 3 y 4) muestra la disposición que vemos frecuentemente en los embriones controles de edades similares.

LAMINA 2

LV-8 (Estradio 24 H.H.)

Figura 1.- Macrofotografía del embrión en la que puede observarse pérdida de la curvatura normal de la columna vertebral (1x).

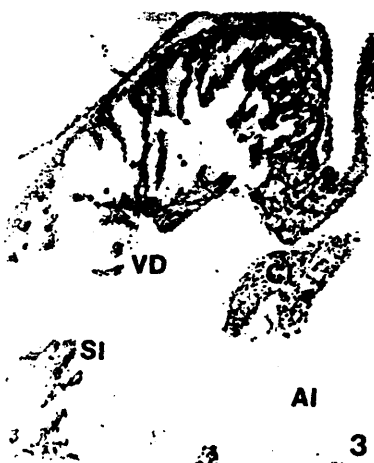
Figura 2.- Corte del corazón embrionario para mostrar la disposición anómala del septum ventricular (4x).

Figura 3.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).

LV-242 (Estradio 23-24 H.H.)

Figura 4.- Corte del corazón embrionario a nivel de los ventrículos . Las flechas indican la presencia de divertículos en la pared ventricular (10x).

Figura 5.- Corte más inferior donde se aprecian los divertículos en la pared ventricular (flechas) (10x).



LAMINA 10

LV-300 (Estadio 24-25 M.M.)

Figura 1.- Corte frontal a nivel de los cojinetes atrio-ventriculares para mostrar el septum ventricular anómalo (10x).

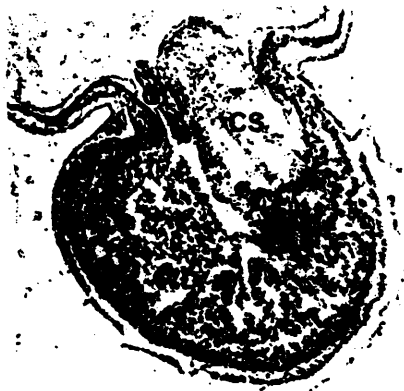
Figura 2.- Corte más inferior a nivel de los cojinetes atrio-ventriculares (4x).

Figura 3.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento para mostrar los límites del septum ventricular (con flechas) (10x).

Figura 4.- Sección más inferior a nivel del cojinete inferior (4x).

Figura 5.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento para señalar los límites del septum ventricular (10x).





1



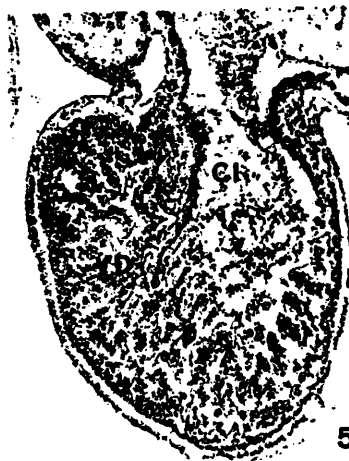
2



3



4



5

### 3.3.- Trabeculización ventricular anómala.

Es bastante frecuente el hallazgo de trabeculización ventricular escasa o de disposición anómala en nuestros embriones intervenidos. A lo largo de estas descripciones podemos comprobarlo en unión de otros defectos. A continuación, exponemos algunos ejemplos muy evidentes en la lámina 11 (figuras 3 a 6). Las edades de estos embriones oscilan entre los estadios 22 y 25 H.H.

En la lámina B (figuras 5 y 6) podemos observar la trabeculización ventricular normal de dos embriones de los estadios 20 y 24 H.H. respectivamente.

### 3.4.- Hipertrofia de cavidad ventricular derecha.

El embrión LV-477 (láminas 27 y 28), correspondiente al estadio 35 H.H., presenta una hipertrofia considerable de la cavidad ventricular derecha (lámina 27: figura 6; lámina 28: figuras 1, 3, 5 y 6) junto con otras malformaciones a nivel bulbar y de arcos aórticos que veremos más adelante.

LAMINA 11

LV-132 (Estadio 21-22 H.H.)

Figura 1.- Corte del corazón embrionario a nivel de los cojinetes atrio-ventriculares. SI: Probable septum ventricular (10x).

Figura 2.- Corte más inferior en el que no se observa septum ventricular (10x).

LV-456 (Estadio 22 H.H.)

Figura 3.- Sección del corazón embrionario a nivel ventricular para apreciar la trabeculización muy escasa (10x).

LV-384 (Estadio 22-23 H.H.)

Figura 4.- Corte del corazón embrionario a nivel de los cojinetes atrio-ventriculares señalando con flechas la trabeculización ventricular muy escasa (10x).

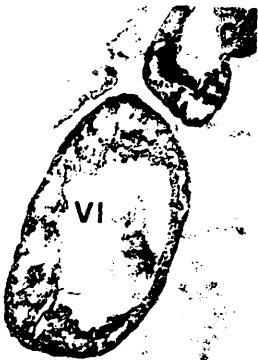
Figura 5.- Corte más inferior donde se sigue apreciando la escasísima trabeculización ventricular (flechas) (4x).

LV-53 (Estadio 25 H.H.)

Figura 6.- Corte del corazón embrionario a nivel de los ventrículos para observar su trabeculización escasa y anómala que afecta también al septum ventricular (10x).



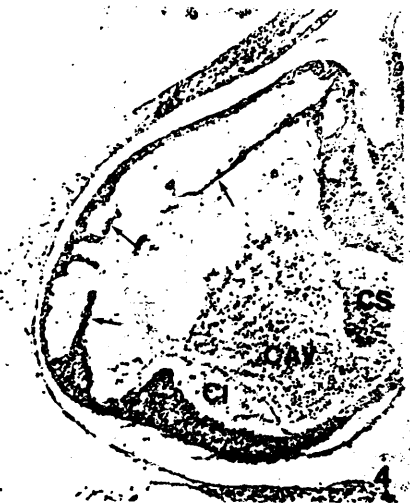
1



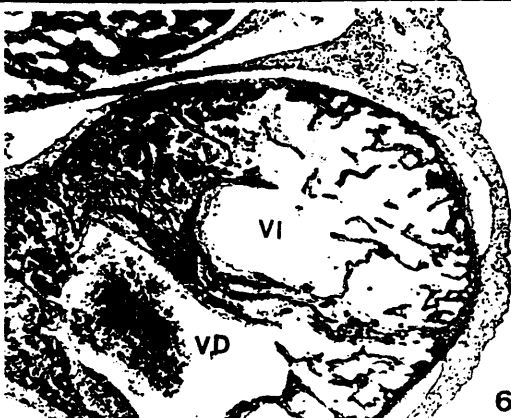
2



3



5



6

#### 4.- MALFORMACIONES BULBARES

4.1.- Alteraciones en la cronología de la fusión de los rodetes bulbares: LV-18; LV-19; LV-20; LV-21; LV-27; LV-30; LV-32; LV-43; LV-55; LV-56; LV-59; LV-65; LV-70; LV-78; LV-86; LV-191; LV-265; LV-286; LV-294; LV-366; LV-369; LV-382; LV-390; LV-394; LV-395; LV-398; LV-402; LV-411; LV-414; LV-417; LV-418; LV-424; LV-477; LV-489; LV-491; LV-493; LV-498; LV-500; LV-502; LV-503; LV-504; LV-507; LV-509; LV-513; LV-514; LV-550; LV-559; LV-601; LV-603.

4.2.-Persistencia de la comunicación interventricular secundaria: LV-70; LV-191; LV-382; LV-390; LV-394; LV-407; LV-414; LV-417; LV-504; LV-548; LV-550; LV-595.

#### 4. MALFORMACIONES BULBARES

##### 4.1.- Alteraciones en la cronología de la fusión de los rodetes bulbares.

Este grupo es el más numeroso dentro de las malformaciones cardíacas que hemos encontrado. Representa un 29,69% sobre el total de las malformaciones y un 15,45% sobre el total de embriones fijados. A continuación, vamos a examinar embriones que presentan un retraso en el proceso de fusión de los rodetes bulbares de forma aislada y, posteriormente, asociado a otro tipo de malformaciones. A su vez, este primer grupo lo hemos ordenado según la edad embrionaria creciente.

La lámina 12 nos muestra las microfotografías pertenecientes al embrión LV-411, fijado en el estadio 30 H.H., tras sufrir cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos en el estadio 18-19 H.H. En la figura 1 podemos apreciar la comunicación entre los infundíbulos aórtico y pulmonar que va aumentando de calibre progresivamente (figura 2) hasta poner en contacto el infundíbulo aórtico con el ventrículo derecho (figura 3). En cortes más inferiores (figuras 4 y 5) puede observarse el proceso de septación que aísla el infundíbulo aórtico del ventrículo derecho por la fusión del cojinete inferior con el vértice del septum ventricular, hecho que no presenta esta disposición en embriones normales.

LAMINA 12

LV-411 (Estadio 30 H.H.)

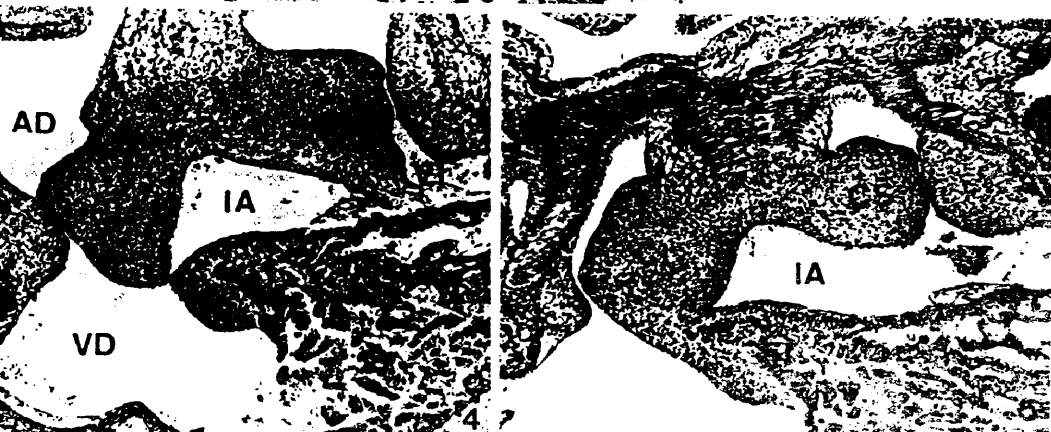
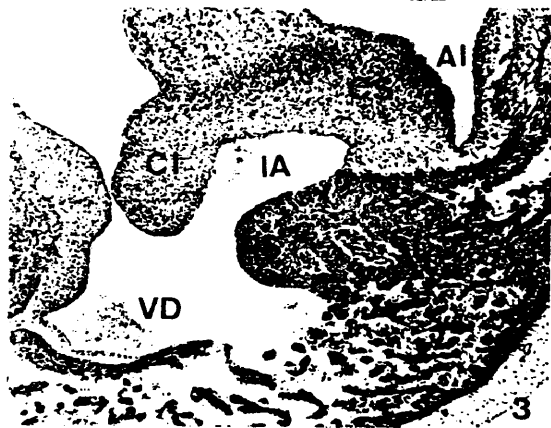
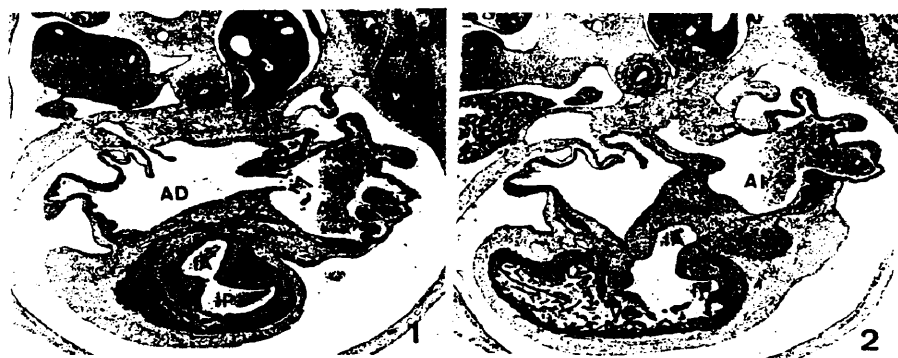
Figura 1.- Corte transversal del corazón embrionario a nivel del bulbus cordis (4x).

Figura 2.- Corte más inferior para poner de manifiesto la amplia comunicación entre los infundibulos aórtico y pulmonar (4x).

Figura 3.- Corte más inferior donde se aprecia la comunicación entre infundíbulo aórtico y ventrículo derecho (10x).

Figura 4.- Sección más inferior en la que el septum ventricular se pone en contacto con el cojinete inferior (10x).

Figura 5.- Corte más inferior que muestra el proceso de septación ventricular (10x).





Las imágenes siguientes (lámina 13) corresponden a los embriones LV-20 y LV-27 fijados en los estadios 30 y 29-30 H.H. respectivamente tras haber sido sometidos a ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos en ambos casos. En la porción bulbar más próxima al truncus, el proceso de septación evoluciona normalmente de forma que sólo apreciamos la línea de fusión entre aorta y arteria pulmonar (figura 2). Sin embargo, en cortes inferiores puede observarse la separación entre los rodetes bulbares (figura 3).

En el embrión LV-27, observamos una pequeña comunicación entre los infundíbulos aórtico y pulmonar (figuras 4 y 5) y, en un corte más inferior (figura 6), el ventrículo derecho queda comunicado ampliamente con el infundíbulo aórtico de forma similar al embrión descrito más arriba (lámina 12). El proceso de fusión de los cojinetes atrio-ventriculares se produce normalmente.

En la lámina 14 se recogen las microfotografías de los embriones LV-265 y LV-366 fijados en los estadios 30-31 y 30 H.H. respectivamente y a los que se suprimió la circulación vitelina del lado derecho. Las figuras 1 y 2 corresponden al embrión LV-265 y en ellas puede apreciarse la separación existente entre los rodetes bulbares parietal y septal que permite una comunicación amplia entre los infundíbulos aórtico y pulmonar (figura 1). Podemos comparar esta figura con las de la lámina C (figuras 3 y 4) que corresponden a un embrión normal de la misma edad.

Las figuras 3 a 6 de esta lámina corresponden al embrión

**LAMINA 13**

**LV-20 (Estadio 30 H.H.)**

Figura 1.- Macrofotografía del embrión por su cara ventro-lateral izquierda (1x).

Figura 2.- Sección a través de aorta y arteria pulmonar para mostrar la línea de fusión entre ellas (10x).

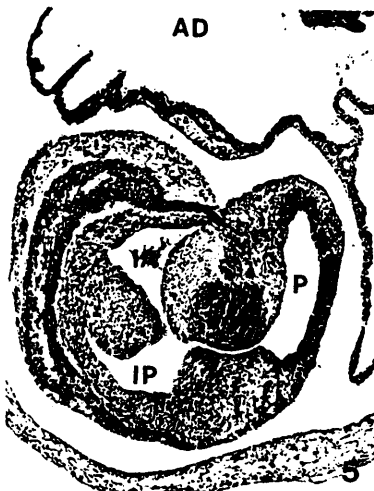
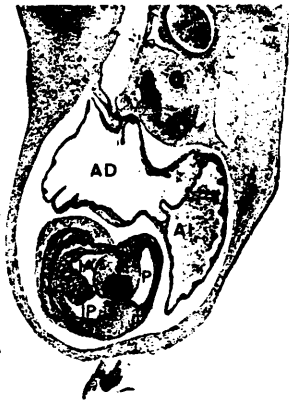
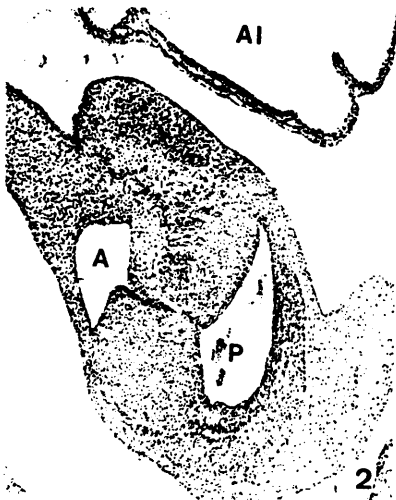
Figura 3.- Corte más inferior que muestra la fusión incompleta de los rudetes bulbares (10x).

**LV-27 (Estadio 29-30 H.H.)**

Figura 4.- Sección del corazón embrionario a través del bulbus cordis (4x).

Figura 5.- Detalle de la figura anterior para mostrar la comunicación entre los infundíbulos aórtico y pulmonar (10x).

Figura 6.- Corte del corazón embrionario en el que se puede apreciar la amplia comunicación entre ventrículo derecho e infundíbulo aórtico (4x).



LAMINA 14

LV-265 (Estadio 30-31 H.H.)

Figura 1.- Sección frontal del corazón embrionario para mostrar el retraso en la fusión de los rodetes bulbares (4x).

Figura 2.- Septación atrio-ventricular normal en un corte inferior (4x).

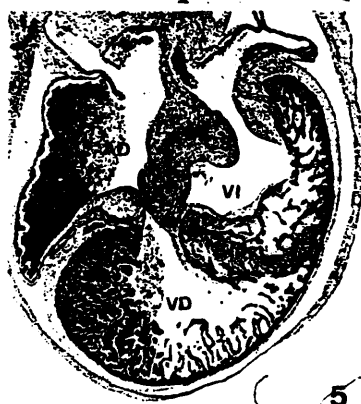
LV-366 (Estadio 30 H.H.)

Figura 3.- Corte del corazón embrionario que muestra la amplia separación entre los rodetes bulbares (4x).

Figura 4.- Corte más inferior donde sigue apreciándose la separación entre los rodetes bulbares (4x).

Figura 5.- Septación atrio-ventricular normal en un corte inferior (4x).

Figura 6.- Detalle de la figura anterior para apreciar la fusión entre los cojinetes atrio-ventriculares y el septum ventricular (10x).



LAMINA C

LV-415 (Estadio 29 H.H.)

Figura 1.- Sección del corazón embrionario que muestra la línea de fusión de los rodetes bulbares (10x).

Figura 2.- Septación bulbo-ventricular normal (4x).

LV-41 (Estadio 31 H.H.)

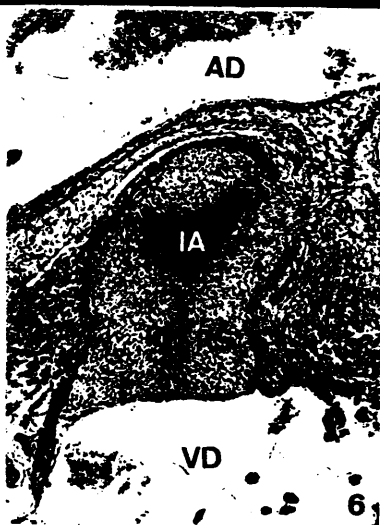
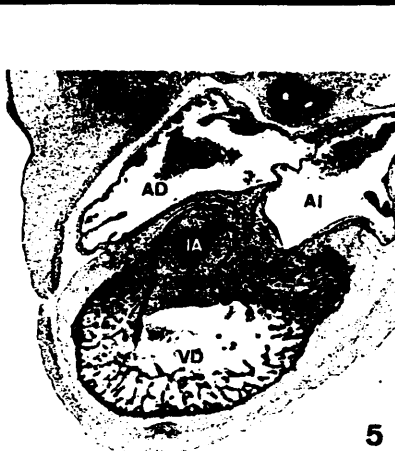
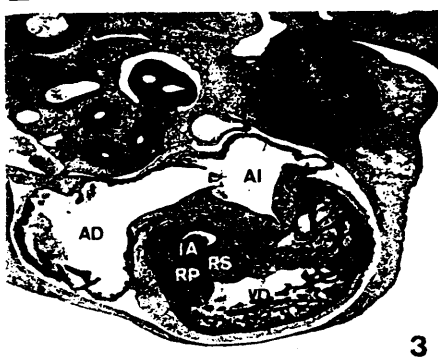
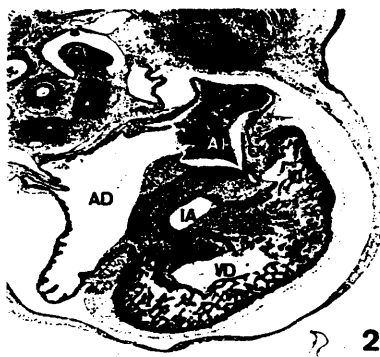
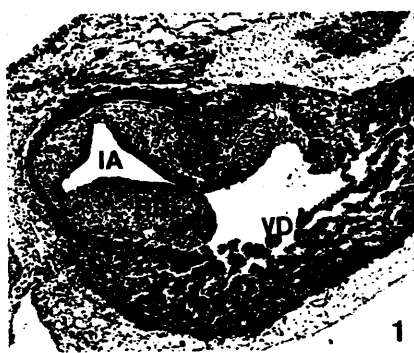
Figura 3.- Línea de fusión de los rodetes bulbares en un embrión normal (4x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).

LV-588 (Estadio 31-32 H.H.)

Figura 5.- Fusión de rodetes bulbares en un embrión normal (4x).

Figura 6.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).



LV-366 que presenta un mayor retraso en el proceso de fusión de los rodetes bulbares (figuras 3 y 4). Sin embargo, la septación ventricular acontece normalmente (figuras 5 y 6).

En la siguiente lámina (número 15) podemos examinar las microfotografías correspondientes al embrión LV-601 intervenido en el estadio 15-16 H.H. mediante ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos y que alcanzó un estadio 30-31 H.H. en el momento de su fijación. En la figura 1 los rodetes bulbares se encuentran en contacto en la porción central pero, en un corte más inferior, los infundíbulos aórtico y pulmonar comunican entre sí por la separación que existe entre los rodetes bulbares (figura 2). El defecto se sigue observando en cortes más inferiores (figuras 3, 4 y 5) hasta que se cierra dicha comunicación interinfundibular cuando ya podemos ver la porción trabeculada de los dos ventrículos (figuras 6 y 7), adoptando el infundíbulo pulmonar una disposición anómala (flecha).

Los embriones LV-18 y LV-19 (lámina 16) alcanzaron un estadio 31 H.H. en el momento de la fijación tras haberseles suprimido la circulación vitelina izquierda en el estadio 17 H.H. a ambos. En la figura 2, que pertenece al embrión LV-18, observamos la comunicación existente entre los dos infundíbulos y el ventrículo derecho puesto que no se ha producido la fusión entre los rodetes bulbares al igual que ocurre en el embrión LV-19 (figura 7). En un corte más inferior puede observarse la comunicación entre infundíbulo aórtico y ventrículo derecho (figura 3) que normalmente no se aprecia en embriones de esta



LAMINA 15

LV-601 (Estadio 30-31 H.H.)

Figura 1.- Sección del corazón embrionario a nivel del bulbus cordis (4x).

Figura 2.- Corte más inferior a nivel bulbar en el que se aprecia la comunicación inter-infundibular (10x).

Figura 3.- Comunicación inter-infundibular en un corte más caudal (4x).

Figura 4.- Sección más inferior en la que se sigue apreciando la comunicación entre los dos infundibulos (4x).

Figura 5.- La comunicación inter-infundibular empieza a disminuir de calibre a nivel de la porción trabeculada de ambos ventrículos (4x).

Figura 6.- Cierre de la comunicación inter-infundibular (4x).

Figura 7.- Detalle de la figura anterior en la que puede observarse la disposición anómala del infundíbulo pulmonar (flecha) (10x).



LAMINA 14

LV-18 (Estadio 31 H.H.)

Figura 1.- Sección del corazón embrionario a nivel del bulbus cordis para apreciar la septación normal entre aorta y arteria pulmonar (4x).

Figura 2.- Corte más inferior en el que se aprecia la comunicación entre los infundibulos aórtico, pulmonar y el ventrículo derecho (10x).

Figura 3.- Corte más inferior a través de los cojinetes atrio-ventriculares para observar la comunicación entre infundíbulo aórtico y ventrículo derecho (4x).

Figura 4.- Septación atrio-ventricular normal en un corte más inferior (4x).

LV-19 (Estadio 31 H.H.)

Figura 5.- Sección del corazón embrionario a nivel del bulbus cordis (10x).

Figura 6.- Corte más inferior a nivel del bulbus cordis en el que se aprecia la línea de fusión de los rodetes bulbares (10x).

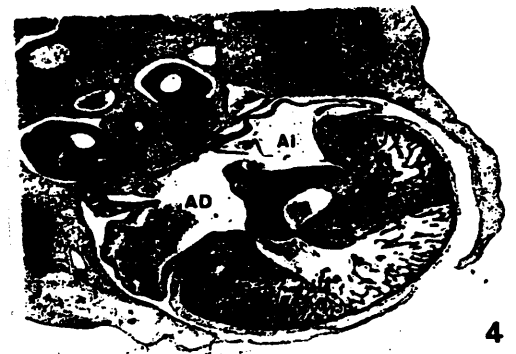
Figura 7.- Amplia comunicación entre aorta e infundibulo pulmonar en un corte más inferior (10x).



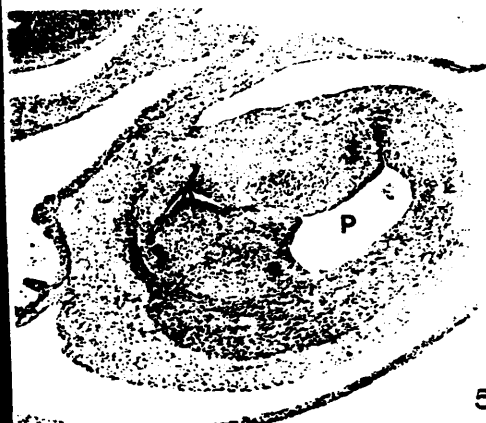
1



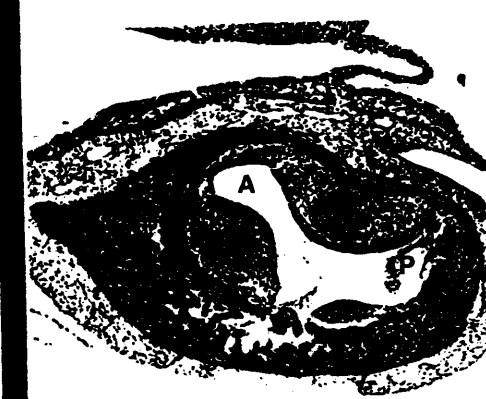
2



4



CR



edad (lámina C: figuras 2,3 y 4).

En la lámina 17 observamos las microfotografías de los embriones LV-55 y LV-65 fijados ambos en el estadio 31-32 H.H. tras haber sido intervenidos mediante ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos. En estas imágenes (figuras 1 a 4) podemos apreciar todavía la línea de fusión entre los rodetes bulbares puesto que la septación no es aún completa.

El embrión LV-424 (lámina 18) fijado en el estadio 31 H.H. muestra también un retraso considerable en el proceso de fusión de los rodetes bulbares (lámina 18: figura 1) fácilmente demostrable si lo comparamos con las microfotografías de embriones normales (lámina C: figuras 3 a 6). En cortes más inferiores (lámina 18: figuras 2 y 3) observamos un desarrollo dentro de límites normales si bien seguimos apreciando la disposición anómala del cojinete atrio-ventricular inferior sobre el vértice del septum ventricular.

Las figuras 4, 5 y 6 de la lámina 18 corresponden al embrión LV-86 fijado en un estadio 34 H.H. e intervenido en el estadio 18 H.H. mediante ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos. En estas imágenes puede observarse la comunicación existente entre el infundíbulo aórtico y el ventrículo derecho debida al retraso en el proceso de fusión de los rodetes bulbares entre si y del cojinete inferior con el rodete septal.

El retraso en el proceso de fusión de los rodetes bulbares ha sido objetivado también en embriones de edades

LAMINA 17

LV-55 (Estadio 31-32 H.H.)

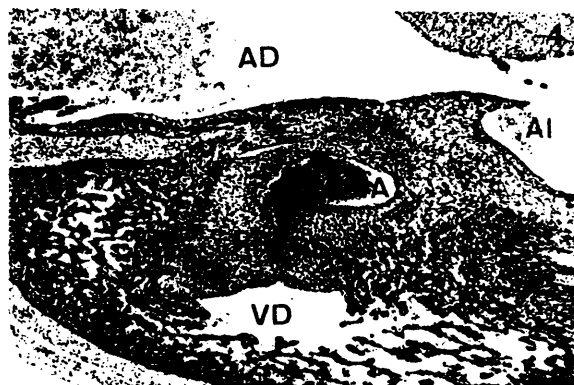
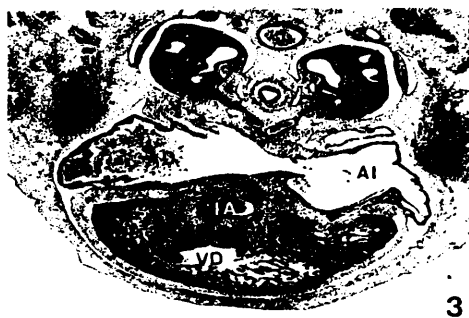
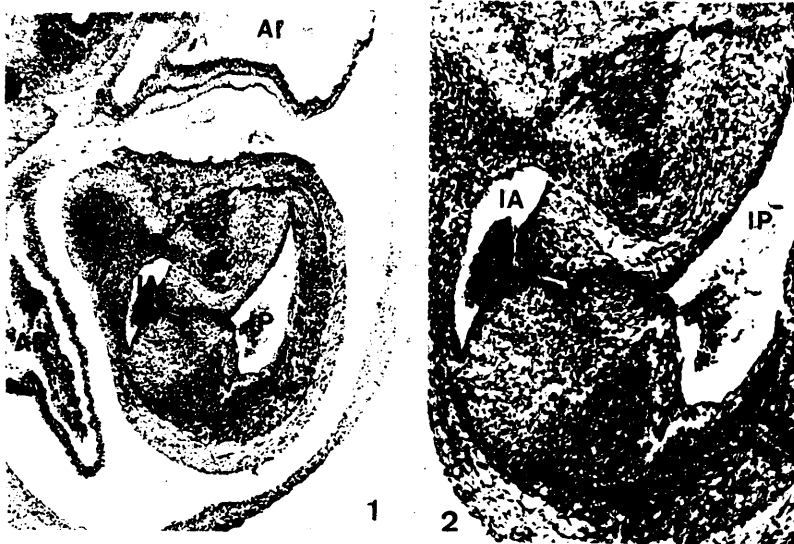
Figura 1.- Sección del corazón embrionario a través del bulbus cordis (10x).

Figura 2.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento en la que puede observarse la pequeña comunicación entre los infundíbulos aórtico y pulmonar (20x).

LV-65 (Estadio 31-32 H.H.)

Figura 3.- Sección del corazón embrionario en la que se observa la línea de fusión de los rodetes bulbares (4x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento para apreciar la pequeña comunicación entre el infundíbulo aórtico y el ventrículo derecho (10x).



LAMINA 18

LV-424 (Estradio 31 H.H.)

Figura 1.- Corte del corazón embrionario que pone de manifiesto la comunicación entre el infundíbulo aórtico y el ventrículo derecho (10x).

Figura 2.- Corte más inferior a través del infundíbulo aórtico y ventrículo derecho ya separados (10x).

Figura 3.- En un corte más inferior se observa la fusión del cojinete inferior con el septum ventricular (10x).

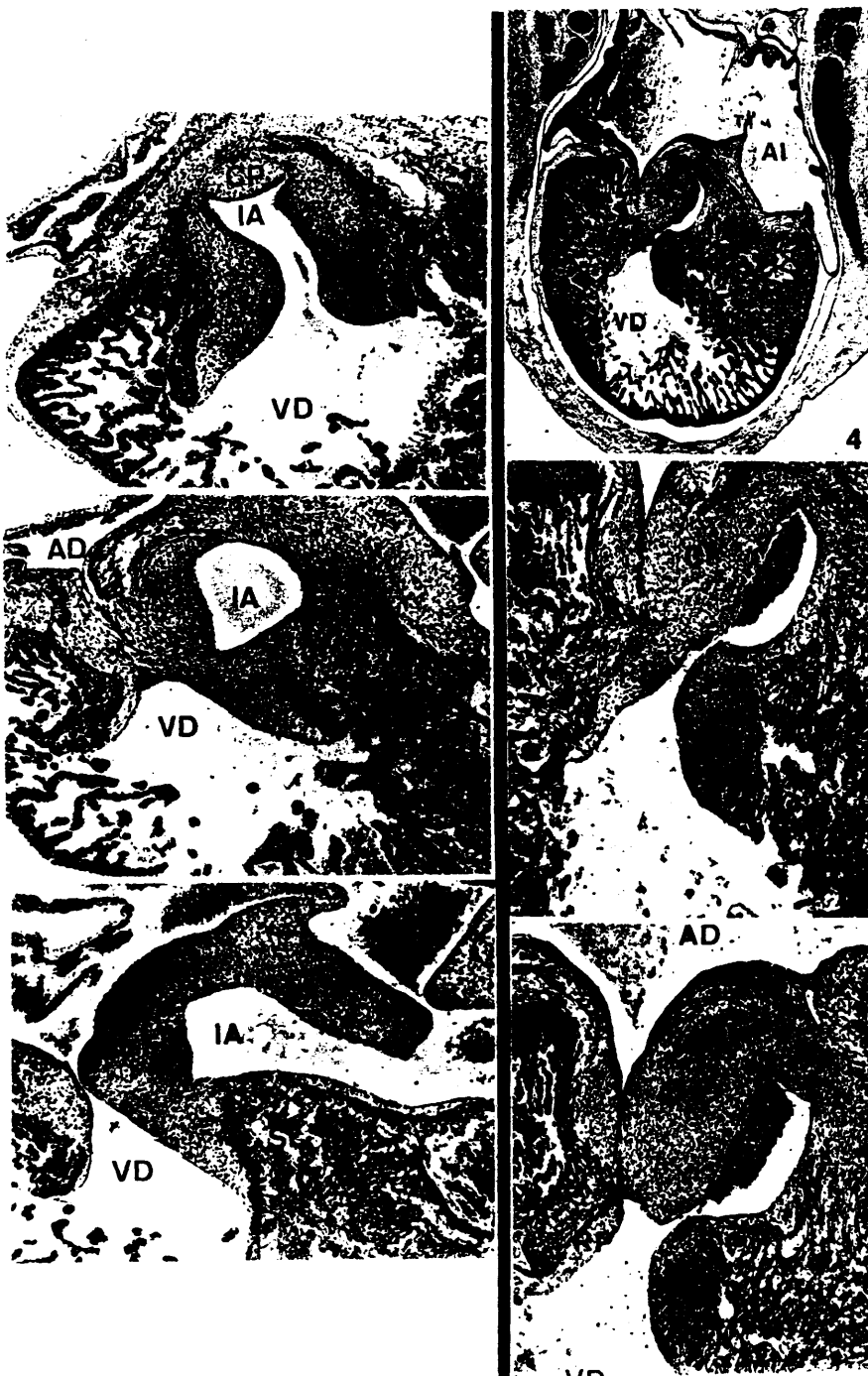
LV-86 (Estradio 33-34 H.H.)

Figura 4.- Sección del corazón a nivel del cojinete inferior y rodetes bulbares (4x).

Figura 5.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento para observar el retraso en la fusión de los rodetes bulbares (10x).

Figura 6.- Corte más inferior en el que se sigue apreciando la comunicación entre infundíbulo aórtico y ventrículo derecho (10x).





superiores como hemos visto en el embrión LV-86 (lámina 18). En la lámina 19 podemos examinar las microfotografías de los embriones LV-509 (figuras 1, 2 y 3) y LV-513 (figuras 4, 5 y 6) que fueron fijados en el estadio 34 H.H. tras haberseles suprimido la circulación a través de los vasos vitelinos derechos en los estadios 18 y 16-17 H.H. respectivamente. En las figuras 1, 2 y 4 se observa el defecto en la fusión de los rodetes bulbares que determina la comunicación entre el infundíbulo aórtico y el infundíbulo pulmonar o/y el ventrículo derecho. En cortes más inferiores, los procesos de septación siguen su curso normal en ambos casos (figuras 3, 5 y 6).

Los embriones LV-514 y LV-500 (lámina 20) fueron fijados en los estadios 34-35 y 35-36 H.H. respectivamente tras haber sufrido la interrupción de la circulación vitelina en el lado derecho. En las figuras 1 y 2 de la lámina 20, que corresponden al embrión LV-514, puede observarse cómo la fusión de los rodetes bulbares no es completa permitiendo el paso de sangre entre el infundíbulo aórtico y el pulmonar. De forma análoga, en las figuras 4 y 5 podemos apreciar la gran comunicación entre el infundíbulo aórtico y el ventrículo derecho gracias a una comunicación de gran calibre si consideramos la edad del embrión LV-500 (estadio 35-36 H.H.). En condiciones normales (figuras 3, 4 y 5 de la lámina D), el proceso de septación bulbar es completo en embriones de la misma edad e, incluso, más jóvenes.

En la lámina 21 podemos analizar las microfotografías del embrión LV-559 que alcanzó un estadio 35 H.H. en el momento de

LAMINA 19

LV-509 (Estadio 34 H.H.)

Figura 1.- Corte del corazón embrionario a nivel del inicio de la comunicación entre ambos infundibulos (4x).

Figura 2.- Corte más inferior en el que se observa la comunicación entre infundibulo aórtico y ventrículo derecho (4x).

Figura 3.- Cierre de dicha comunicación (4x).

LV-513 (Estadio 34 H.H.)

Figura 4.- Corte del corazón embrionario a nivel de la comunicación interinfundibular (4x).

Figura 5.- Cierre de la comunicación (4x).

Figura 6.- Corte más inferior en el que continúa normalmente el proceso de septación bulbar (4x).



LAMINA 20

LV-514 (Estadio 34-35 H.H.)

Figura 1.- Sección del corazón embrionario a nivel del defecto de fusión de los rodetes bulbares (4x).

Figura 2.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento para observar la comunicación interinfundibular (10x).

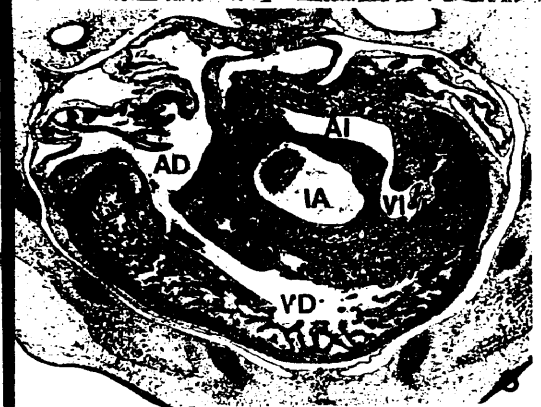
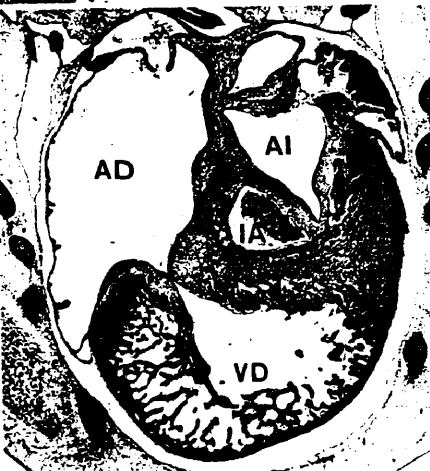
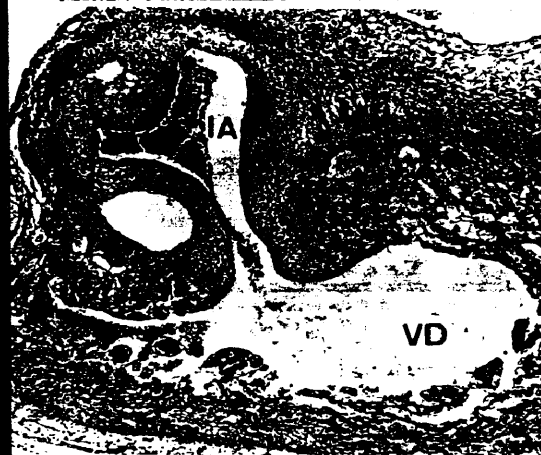
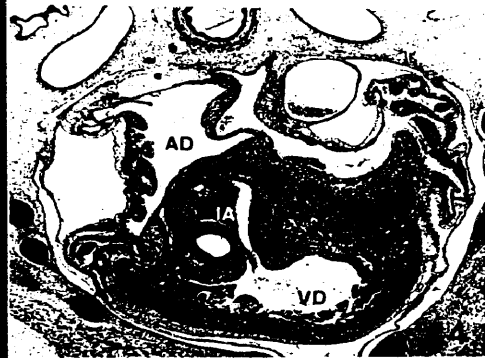
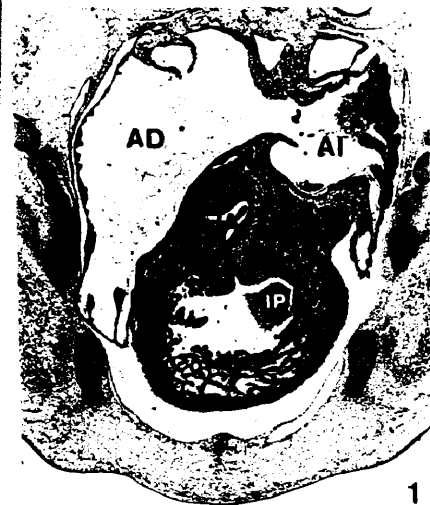
Figura 3.- Corte más inferior en el que se aprecia una septación ventricular normal (4x).

LV-500 (Estadio 35-36 H.H.)

Figura 4.- Corte del corazón embrionario a nivel del defecto de fusión de los rodetes bulbares (4x).

Figura 5.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento en la que se aprecia el paso de sangre entre el infundíbulo aórtico y el ventrículo derecho (10x).

Figura 6.- Septación ventricular normal en un corte más inferior (4x).



LAMINA D

LV-492 (Estadio 32 H.H.)

Figura 1.- Sección del corazón embrionario que muestra la septación normal a nivel de los infundíbulos aórtico y pulmonar (4x).

Figura 2.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).

LV-589 (Estadio 34 H.H.)

Figura 3.- Corte del corazón embrionario a nivel de la válvula sigmoidea aórtica donde se observa una septación bulbar normal (4x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).

Figura 5.- Corte inferior al de las figuras anteriores mostrando la septación bulbar normal (4x).





LAMINA 21

LV-559 (Estadio 35 H.H.)

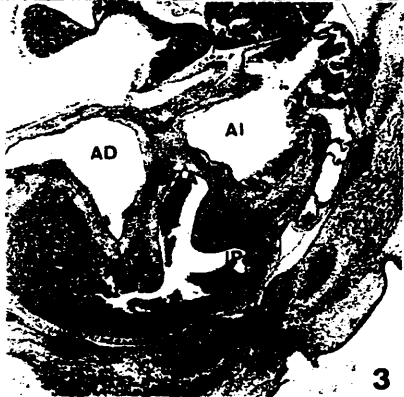
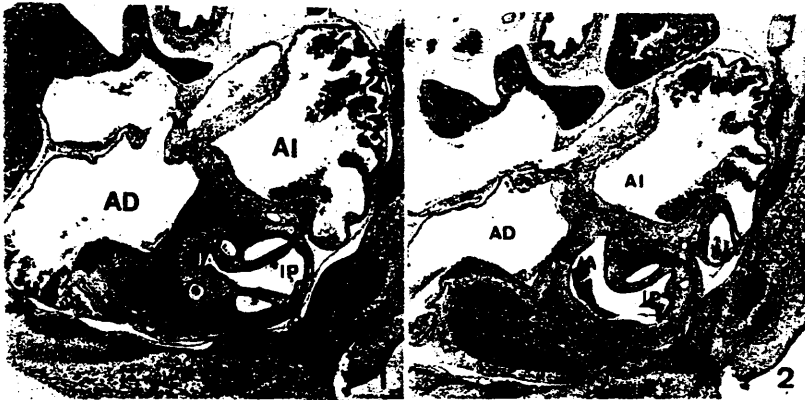
Figura 1.- Corte del corazón embrionario a nivel de las sigmoideas aórtica y pulmonar (4x).

Figura 2.- Corte más inferior que muestra la comunicación entre los dos infundíbulos a nivel de la sigmoidea pulmonar anómala (4x).

Figura 3.- En un corte más caudal se sigue apreciando la gran comunicación entre los dos infundíbulos (4x).

Figura 4.-Comunicación interinfundibular en un corte más inferior (4x).

Figura 5.- Cierre del defecto en un corte más caudal (4x).



su fijación tras ser sometido a cauterización y sección de los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 16 H.H. En las figuras 1 y 2 se aprecia la comunicación, de dimensiones importantes, entre los infundíbulos aórtico y pulmonar que puede visualizarse ya a nivel de las válvulas sigmoideas. Esta comunicación se acompaña de deformación de la sigmoidea pulmonar que aparece dilatada (figuras 1 y 2). En cortes más inferiores (figuras 3 y 4) se sigue apreciando esta gran comunicación interinfundibular y, finalmente, queda aislado el infundíbulo aórtico por cierre del defecto (figura 5).

El embrión LV-502 (lámina 22) fue intervenido mediante cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos en el estadio 18 H.H. alcanzando un estadio 36 H.H. en el momento de su fijación. En las figuras 1 a 4 de la lámina 22 puede observarse el defecto en la fusión de los rodetes bulbares (flecha en la figura 4) que pone en contacto el infundíbulo aórtico con el ventrículo derecho. En estas figuras nos llama también la atención la forma atípica del infundíbulo aórtico debido al relieve que hace en su luz y borde derecho la cresta conal posterior. En las figuras 5 y 6 queda definitivamente cerrada la comunicación con el ventrículo derecho pero la falta de fusión de los rodetes bulbares en el borde anterior del infundíbulo aórtico determina la prolongación de su luz en dicho borde. En las figuras 5 y 6 es llamativo el desarrollo de la arteria coronaria que se sitúa debajo del rodete septal. Finalmente, en un corte inferior (figura 7), observamos la septación ventricular dentro de límites normales.

LAJINA 22

LV-302 (Estado 36 H.M.)

Figura 1.- Sección del corazón embrionario a nivel de la válvula sigmoidea aórtica (4x).

Figura 2.- Corte más caudal en el que se aprecia el defecto de fusión de los rodetes bulbares (4x).

Figura 3.- Corte inferior al de la figura anterior en el que se sigue observando el retraso en la fusión de los rodetes bulbares (4x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento para destacar la comunicación entre infundíbulo aórtico y ventrículo derecho (10x).

Figura 5.- Sección más inferior en la que se aprecia el cierre de la comunicación observada en las figuras anteriores (4x).

Figura 6.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento para apreciar la prolongación anterior del infundíbulo aórtico debido al defecto de fusión bulbar y el gran desarrollo de la arteria coronaria (10x).

Figura 7.- Septación ventricular normal en un corte más inferior (4x).



Las microfotografías de la lámina 23 corresponden a los embriones LV-489 y LV-493 a los que se cauterizaron y seccionaron los vasos vitelinos derechos en los estadios 17 y 15-16 H.H. alcanzando unos estadios finales 32 y 32-33 H.H. respectivamente. En ambos casos (figuras 1,5 y 6) puede observarse un retraso en el proceso de fusión de los rodetes bulbares, si bien la septación bulbar en cortes más inferiores llega a ser normal (figuras 2, 7 y 8). Podemos observar además cómo la vena pulmonar desemboca, de forma anómala, en la aurícula derecha en el primer embrión (figuras 3 y 4) y la trabeculización ventricular escasa y adelgazada en el segundo (figuras 7 y 8).

Las láminas 24 y 25 pertenecen al embrión LV-56 fijado en el estadio 31-32 tras proceder con la ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 17-18 H.H. Podemos observar cómo la septación a nivel de truncus arteriosus transcurre normalmente (lámina 24: figura 3) pero, a nivel bulbar, se produce una comunicación interinfundibular que no debería verse en un embrión normal de esta edad (lámina 24: figuras 4, 5 y 6). Es significativa la hipoplasia del rodete parietal o derecho (lámina 24: figuras 5 y 6). En las figuras 3, 4 y 6 de la lámina 25 se observa la persistencia de comunicación interventricular secundaria. El cojinete inferior adquiere una disposición anómala que ya hemos comentado en el apartado 2.4. Junto a las malformaciones cardíacas, debemos destacar la existencia de una microftalmía izquierda en este embrión (lámina 24: figura 2).

LAMINA 23

LV-489 (Estradio 32 H.H.)

Figura 1.- Sección del corazón embrionario a través de la comunicación interinfundibular (4x).

Figura 2.- Cierre de la comunicación en un corte inferior (4x).

Figura 3.- Desembocadura anómala de la vena pulmonar en la aurícula derecha (10x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (20x).

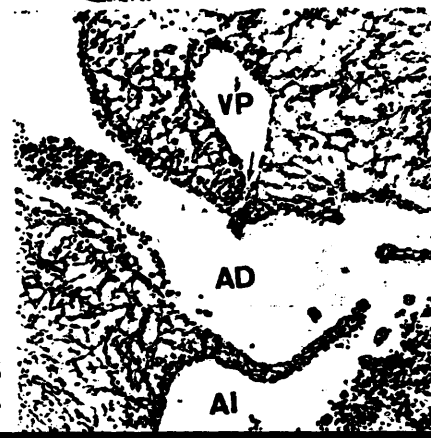
LV-493 (Estradio 32-33 H.H.)

Figura 5.- Corte del corazón embrionario a nivel de la comunicación interinfundibular (4x).

Figura 6.- Corte más inferior en el que se cierra parcialmente dicha comunicación (4x).

Figura 7.- Escasa trabeculización ventricular (flechas) (10x).

Figura 8.- Septación cardiaca normal en un corte inferior a los anteriores (4x).





LAMINA 24LV-56 (Estadio 31-32 H.H.)

Figura 1.- Macrofotografía del embrión por su lado derecho (2x).

Figura 2.- Macrofotografía del embrión para destacar la microftalmia izquierda (2x).

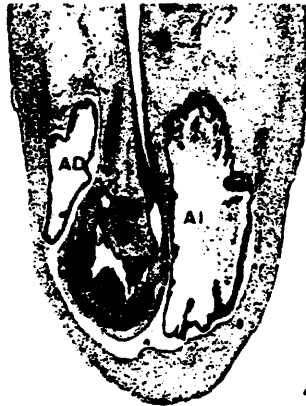
Figura 3.- Corte del corazón embrionario a nivel del truncus arteriosus (4x).

Figura 4.- Corte del corazón embrionario a nivel del bulbus cordis (4x).

Figura 5.- Corte inferior y a mayor aumento que el de la figura anterior para poner de manifiesto la comunicación interinfundibular e hipoplasia del rodete parietal (10x).

Figura 6.- Comunicación interinfundibular en un corte inferior en el que destaca la hipoplasia del rodete parietal (10x).

287



LAMINA 23

LV-56 (Estadio 31-32 H.H.)

Figura 1.- Comunicación infundíbulo aórtico-ventrículo derecho en un corte inferior (ver lámina anterior) (10x).

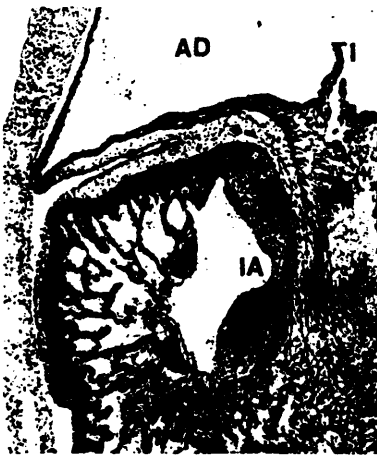
Figura 2.- Corte a nivel del cojinete superior en el que sigue apreciándose la comunicación entre el infundíbulo aórtico y el ventrículo derecho (10x).

Figura 3.- Corte inferior para apreciar la persistencia de comunicación interventricular secundaria (4x).

Figura 4.- Disposición anómala del cojinete inferior sobre el vértice del septum ventricular (10x).

Figura 5.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento en la que puede apreciarse la línea de fusión entre los cojinetes atrio-ventriculares (20x).

Figura 6.- Persistencia de la comunicación interventricular secundaria a nivel del cojinete inferior (4x).



El embrión LV-294 (lámina 26) se fijó en el estadio 30-31 H.H. tras haber conseguido la supresión de la circulación a través de los vasos vitelinos izquierdos mediante la introducción del gancho de Stephan en el estadio 18-19 H.H. En las figuras 2 y 3 de la lámina 26 puede apreciarse la comunicación entre los infundíbulos aórtico y pulmonar, defecto que desaparece en cortes inferiores (figuras 4, 5 y 6). En este embrión se aprecia también la persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo (figura 1) y una trabeculización ventricular escasa y anómala que afecta a las cavidades ventriculares (figuras 1 a 6) e, incluso, al septum ventricular en su porción más alta (figura 5).

En las láminas 27 y 28 observamos las microfotografías del embrión LV-477 que alcanzó el estadio 35 H.H. en el momento de su fijación tras haber sido sometido a cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos en el estadio 18 H.H. En las figuras 1 y 2 de la lámina 28 se puede apreciar la gran comunicación interinfundibular que parte del ventrículo derecho. En cortes inferiores (lámina 28: figuras 3 a 6) puede observarse el cierre del defecto y los procesos de septación cardíaca normales de acuerdo con la edad del embrión. Podemos comparar las imágenes de la comunicación interinfundibular con las figuras 1 y 2 de la lámina D que corresponden a un embrión normal del estadio 32 H.H. y en las que puede observarse la septación completa que existe entre los infundíbulos de las grandes arterias. Es significativo el tamaño que adquiere la cavidad ventricular derecha en este

embrión y que ya ha sido comentado (lámina 27: figura 6; lámina 29: figuras 1, 3, 5 y 6). Nos ha llamado la atención el escaso desarrollo que presenta el cuarto arco aórtico derecho (lámina 27: figuras 1 a 6) en oposición al sexto arco aórtico que aparece hipertrofiado (lámina 27: figuras 3 a 6). Junto a las malformaciones anteriores, podemos objetivar ectopia cordis (lámina 27: figura 5) y celosomía (lámina 27: figuras 5 y 6).

LAMINA 26

LV-294 (Estadio 30-31 H.H.)

Figura 1.- Corte a través de las cavidades cardiacas derechas para mostrar la persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo (4x).

Figura 2.- Comunicación interinfundibular en un corte inferior (4x).

Figura 3.- Persiste la comunicación interinfundibular a un nivel más caudal (4x).

Figura 4.- Septación bulbar normal en un corte más inferior (4x).

Figura 5.- Trabeculización ventricular anómala que afecta a cavidades y septum ventriculares (4x).

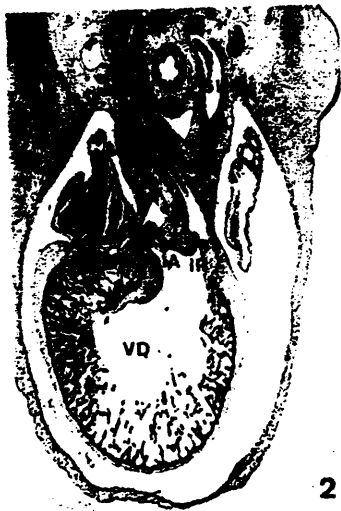
Figura 6.- Septación ventricular normal (4x).



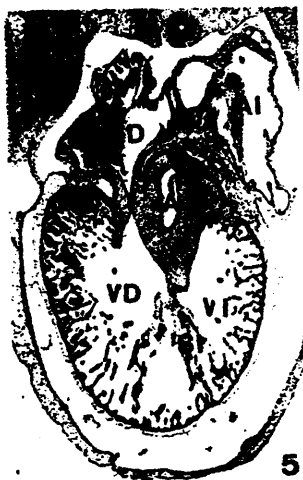
1



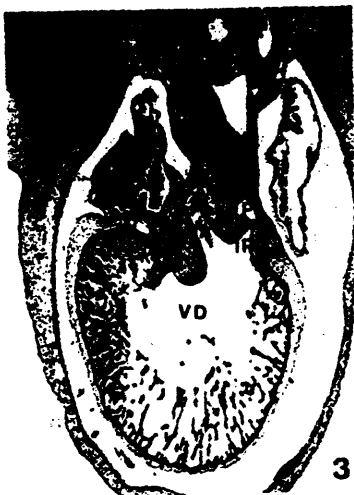
4



2



5



3



6



LAMINA 22

LV-477 (Estadio 35 H.H.)

Figura 1.- Sección a través de los arcos aórticos para apreciar la hipoplasia del cuarto arco aórtico derecho (10x).

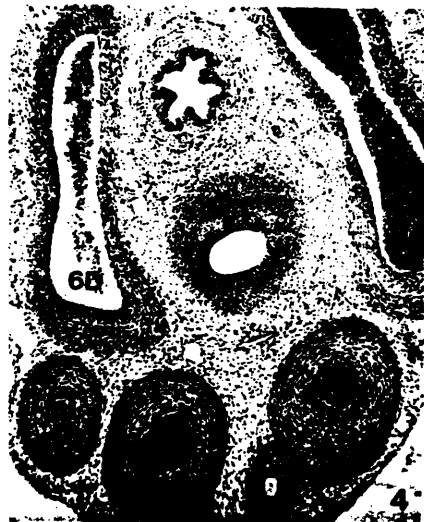
Figura 2.- Corte inferior al anterior en el que se sigue observando la hipoplasia del cuarto arco aórtico derecho (10x).

Figura 3.- Sección a través de los sextos arcos aórticos (10x).

Figura 4.- Corte inferior al anterior en el que se aprecia la diferencia de calibre entre cuarto arco aórtico derecho y sextos arcos aórticos (10x).

Figura 5.- Sección a través de los arcos aórticos y cavidades cardíacas derechas para observar la ectopia cordis y celosomía (4x).

Figura 6.- Corte inferior en el que se sigue apreciando la celosomía (4x).



LAMINA 28

LV-477 (Estadio 35 H.H.)

Figura 1.- Sección a través de la comunicación interinfundibular (4x).

Figura 2.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento para observar la comunicación (10x).

Figura 3.- Corte inferior para observar el cierre de la comunicación (4x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).

Figura 5.- Septación ventricular normal (4x).

Figura 6.- Septación ventricular normal en un corte más inferior (4x).



#### 4.2.- Persistencia de la comunicación interventricular secundaria.

Este defecto aparece con una frecuencia del 7,27% con respecto a todas las malformaciones y del 3,78% con respecto a los embriones fijados.

La persistencia de la comunicación interventricular secundaria se ha presentado en algunos embriones de forma aislada y, otras veces, en asociación con retraso en la fusión de los rodetes bulbares. En este segundo grupo podemos incluir al embrión LV-382 (lámina 29) fijado en el estadio 29 H.H. tras haber sido sometido a cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos en el estadio 17-18 H.H. En las figuras 1 y 2 podemos observar la comunicación existente entre infundíbulo aórtico y ventrículo derecho, mayor a la observada en embriones control. En las imágenes 3, 4 y 5 se aprecia la persistencia de una gran comunicación interventricular (196 $\mu$  de calibre), que se cierra mediante la fusión del cojinete inferior con el rodete septal (figura 6). Las figuras de esta lámina deben compararse con un embrión normal del estadio 30 H.H. cuyas microfotografías se exponen en la lámina E (figuras 1 y 2).

En la lámina 30 se pueden examinar las microfotografías correspondientes a los embriones LV-417 y LV-407 fijados en los estadios 30-31 y 30 H.H. respectivamente tras haber sido

LAMINA 29

LV-382 (Estadio 29 H.H.)

Figura 1.- Sección del corazón embrionario que pone de manifiesto la fusión incompleta de los rodetes bulbares (4x).

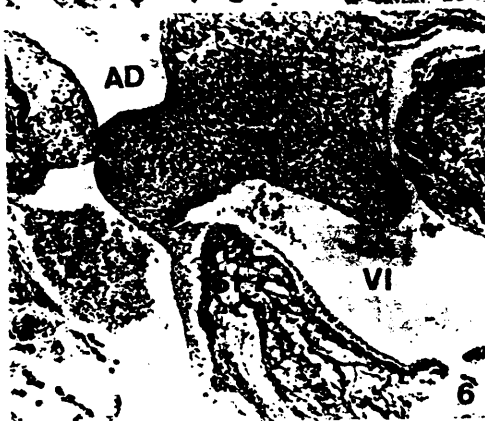
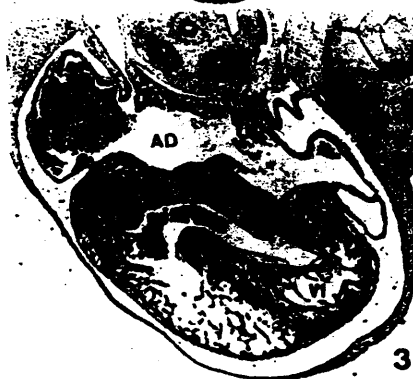
Figura 2.- En un corte inferior , los rodetes bulbares se encuentran alejados entre sí permitiendo la comunicación entre infundibulo aórtico y ventrículo derecho (4x).

Figura 3.- Persistencia de la comunicación interventricular secundaria (4x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).

Figura 5.- En un corte inferior , la comunicación interventricular disminuye de calibre (10x).

Figura 6.- Septación ventricular normal en un corte más inferior (10x).



LAMINA E

LV-400 (Estadio 30 H.H.)

Figura 1.- Sección del corazón embrionario que muestra una septación bulbar normal (4x).

Figura 2.- Corte más inferior en el que se aprecia la septación ventricular normal (4x).

LV-41 (Estadio 31 H.H.)

Figura 3.- Septación bulbar normal (4x).

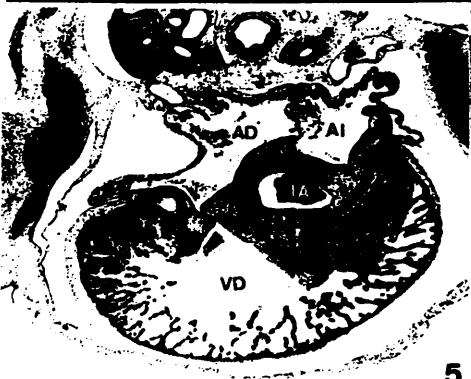
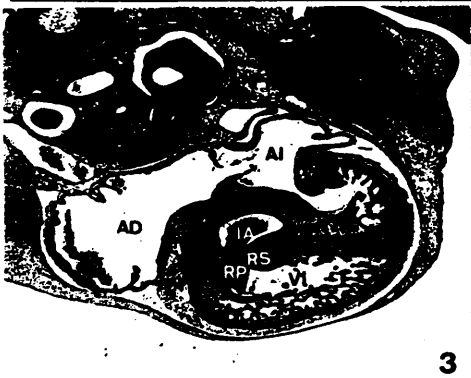
Figura 4.- Septación ventricular normal (4x).

LV-429 (Estadio 32 H.H.)

Figura 5.-Sección del corazón embrionario mostrando un proceso de septación bulbar normal (4x).

Figura 6.- Septación ventricular normal en un corte inferior (4x).





LAMINA 30

LV-417 (Estadio 30-31 H.H.)

Figura 1.- Corte del corazón a nivel de la comunicación interinfundibular (4x).

Figura 2.- Comunicación infundíbulo aórtico-ventrículo derecho en un corte inferior (4x).

Figura 3.- Persistencia de la comunicación interventricular secundaria (4x).

Figura 4.- Septación ventricular normal (4x).

LV-407 (Estadio 30 H.H.)

Figura 5.- Sección del corazón embrionario que muestra la persistencia de la comunicación interventricular secundaria (4x).

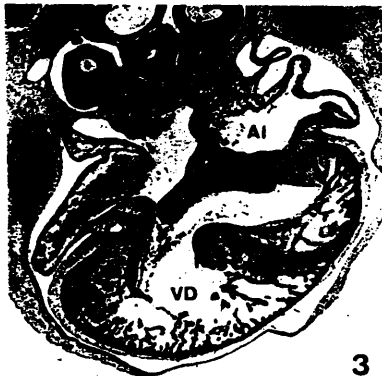
Figura 6.- Septación ventricular normal (4x).



1



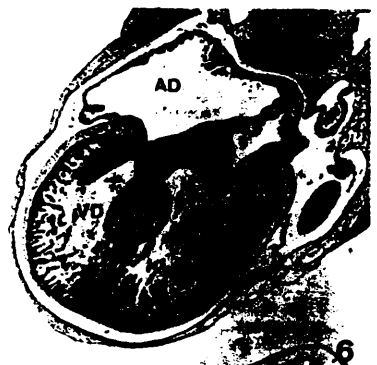
2



3



4



6

sometidos a cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos en ambos casos. El embrión LV-417 muestra un retraso en la fusión de los rodetes bulbares que determina una comunicación interinfundibular y/o con el ventrículo derecho (figuras 1 y 2). En cortes inferiores, puede observarse la persistencia de la comunicación interventricular secundaria (con un diámetro de  $140\mu$ ) (figura 3). El segundo embrión, LV-407, posee una comunicación interventricular secundaria de  $161\mu$  de diámetro (figura 5). En ambos casos, la septación ventricular en cortes más inferiores se desarrolla normalmente a pesar de que seguimos observando cómo el cojinete inferior termina sobre el vértice del septum ventricular (figuras 4 y 6). En los embriones controles de estadios 27 a 29 H.H. la comunicación interventricular secundaria mide habitualmente  $35-40\mu$ . Debemos comparar las imágenes de la lámina 30 con las figuras 3 y 4 de la lámina E que corresponden a un embrión normal del estadio 31 H.H.

El embrión LV-70 puede analizarse en las láminas 31 a 36. Este embrión fue fijado en el estadio 30-31 H.H. tras sufrir ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 17 H.H. Presentamos también las fotografías de las reconstrucciones realizadas del corazón de este embrión a 140 aumentos por el método de BORN (1983) (láminas 34, 35 y 36).

Las figuras 1 a 4 de la lámina 33 muestran el defecto en la fusión de los rodetes bulbares, determinando una comunicación entre el infundíbulo aórtico y el ventrículo derecho. La cresta conal anterior queda desplazada hacia la

LAMINA 31

LV-70 (Estadio 30-31 H.H.)

Figura 1.- Corte horizontal a través del tercer arco aórtico (10x).

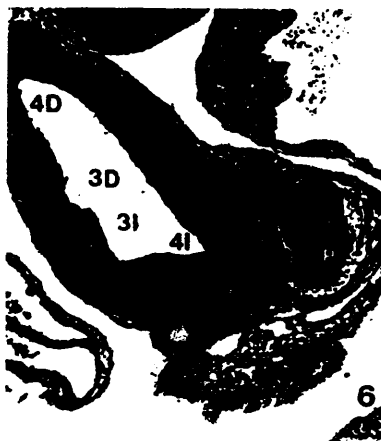
Figura 2.- Sección a nivel de tercer y cuarto arcos aórticos en la que puede apreciarse el cuarto arco aórtico izquierdo en vías de atrofia (10x).

Figura 3.- Montaje fotográfico que muestra la sección de los arcos aórticos tercero y cuarto (10x).

Figura 4.- Sección a través de tercer y cuarto arcos aórticos y tronco de la arteria pulmonar (10x).

Figura 5.- Corte horizontal a nivel de los arcos aórticos tercero y cuarto y tronco de la arteria pulmonar (4x).

Figura 6.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).



LAMINA 32

LV-70 (Estadio 30-31 H.H.)

Figura 1.- Sección a nivel de los infundibulos aórtico y pulmonar. Pueden visualizarse las arterias pulmonares (4x).

Figura 2.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (20x).

Figura 3.- Corte inferior al anterior a través del infundibulo aórtico y el infundibulo pulmonar atrófico (4x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (20x).

Figura 5.- El infundibulo pulmonar queda reducido a un pequeño coágulo (10x).

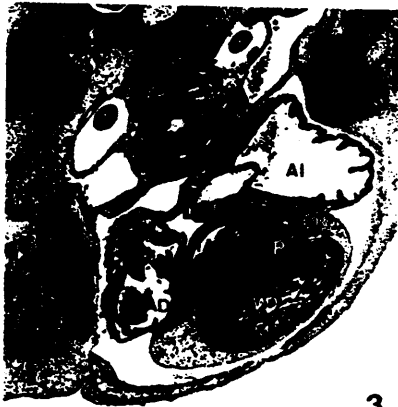
Figura 6.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (20x).



1



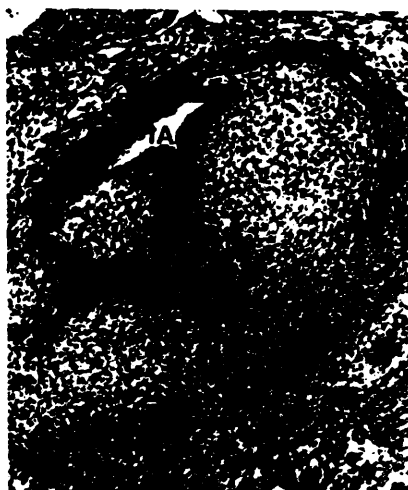
2



3



4





LAMINA 33

LV-70 (Estadio 30-31 H.H.)

Figura 1.- Corte horizontal a través del infundíbulo aórtico y cavidad ventricular derecha para poner de manifiesto la comunicación entre ellos. Pueden observarse las arterias pulmonares (4x).

Figura 2.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (20x).

Figura 3.- Entre el rodete septal y la cresta conal anterior se insinúa una fisura que puede comunicar el infundíbulo aórtico con el vestigio de infundíbulo pulmonar (10x).

Figura 4.- En un corte inferior pueden observarse los rodets bulbares ampliamente separados (4x).

Figura 5.- Persistencia de la comunicación interventricular secundaria (4x).



1



2



3



4



5

derecha favoreciendo el paso de hematíes entre las dos estructuras citadas (lámina 33: figuras 2 y 3). Entre la cresta conal anterior y el rodete septal se insinúa una fisura desde el infundíbulo aórtico hacia el vestigio de infundíbulo pulmonar (lámina 33: figuras 2 y 3). En la figura 5 de la lámina 33 se evidencia la persistencia de una comunicación interventricular secundaria grande para la edad del embrión. Estas imágenes histológicas pueden corroborarse con las obtenidas en las reconstrucciones (lámina 35: figuras 5 y 6; lámina 36: figuras 1, 2 y 3).

En este embrión se objetiva una ausencia total de la porción ventral del sexto arco (lámina 31: figuras 1 a 6) con un infundíbulo pulmonar atrófico que presenta un coágulo sanguíneo en su luz (lámina 32: figuras 1 a 6; lámina 35: figuras 1 a 4). Las arterias pulmonares proceden del cuarto arco aórtico posiblemente por persistencia de las conexiones entre las porciones dorsales del cuarto, quinto y sexto arcos aórticos (lámina 31: figuras 2 a 5; lámina 34: figuras 2 y 3). Estas arterias pulmonares se ven descender e introducirse en el parénquima pulmonar (lámina 32: figuras 1 y 3; lámina 33: figuras 1, 4 y 5). Se aprecia un buen desarrollo del cuarto arco aórtico derecho mientras que el izquierdo se encuentra en vías de atrofia (lámina 31: figuras 2 a 6; lámina 34: figuras 4 y 5). El tronco de la arteria pulmonar termina en fondo de saco, sin que pueda visualizarse la válvula sigmoidea pulmonar y el infundíbulo pulmonar pierde su conexión con la luz ventricular derecha, si bien es posible que reciba sangre a

LAMINA 34

LV-70 (Estadio 30-31 H.H.)

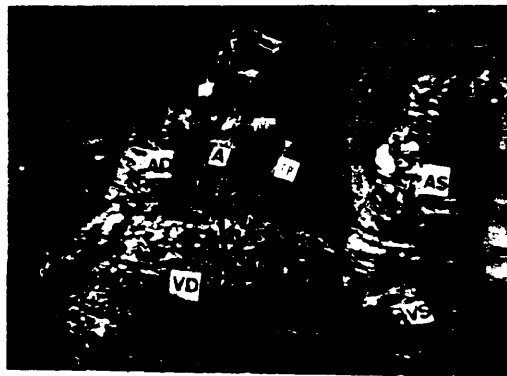
Figura 1.- Visión ventral de la primera reconstrucción.

Figura 2.- Visión dorsal de la primera reconstrucción.

Figura 3.- Visión lateral derecha de la primera reconstrucción.

Figura 4.- Visión ventral de la segunda reconstrucción.

Figura 5.- Visión ántero-lateral izquierda de la segunda reconstrucción en la que se aprecia el tronco de la arteria pulmonar terminando en fondo de saco.



LAMINA 35

LV-70 (Estadio 30-31 H.H.)

Figura 1.- Sección a través del tronco de la arteria pulmonar en fondo de saco y a nivel de los arcos aórticos tercero y cuarto.

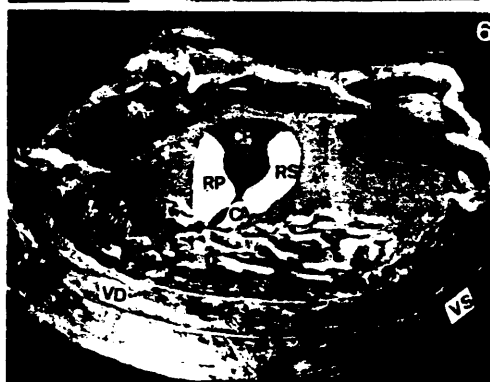
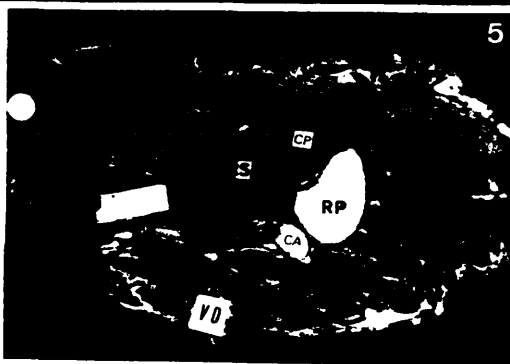
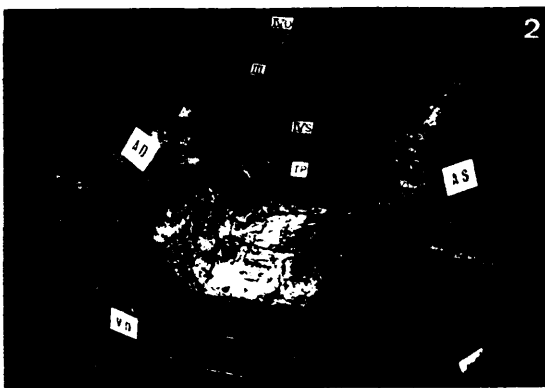
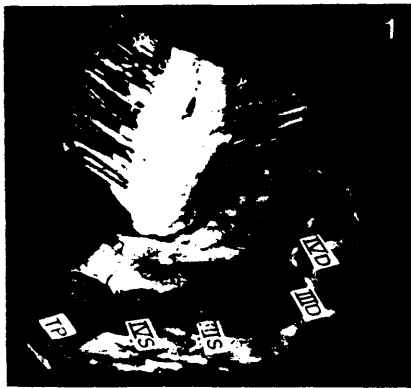
Figura 2.- Imagen superponible a la de la figura anterior.

Figura 3.- Corte horizontal a nivel de los infundibulos aórtico y pulmonar.

Figura 4.- Imagen superponible a la de la figura anterior.

Figura 5.- Sección más inferior que pone de manifiesto el defecto en la fusión de los rodetes bulbares.

Figura 6.- Imagen superponible a la figura 5.



LAMINA 36

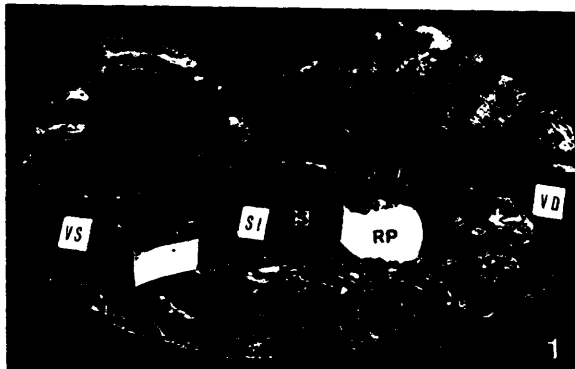
LV-70 (Estadio 30-31 H.H.)

Figura 1.- Corte horizontal a nivel de la comunicación entre infundíbulo aórtico y ventrículo derecho.

Figura 2.- Persistencia de la comunicación interventricular secundaria.

Figura 3.- Septum ventricular normal en un corte inferior.





través de una pequeña fisura, que mencionábamos anteriormente, entre el rodete septal y la cresta conal anterior (lámina 32: figuras 1 a 6; lámina 33: figuras 1, 2 y 3; lámina 34: figuras 4 y 5).

En la lámina 37 se pueden observar las microfotografías pertenecientes al embrión LV-550 intervenido muy precozmente -en el estadio 12-13 H.H.- mediante sección del área vascular derecha y que alcanzó un estadio 35-36 H.H. en el momento de su fijación. En la figura 1 pueden apreciarse los rodetes bulbares en contacto pero en un corte inferior, representado en la figura 2, existe una enorme comunicación entre el infundíbulo aórtico y el ventrículo derecho, que persiste en cortes inferiores (figura 3) para cerrarse finalmente (figura 4). Como podemos observar se trata de la persistencia de una comunicación interventricular secundaria en un embrión que presenta, además, un retraso en la fusión de los rodetes bulbares. Esta comunicación mide 368 $\mu$ . Como puede verse en las figuras 2, 3 y 4 la cavidad ventricular derecha parece desplazar la cavidad ventricular izquierda y septum ventricular hacia arriba y a la derecha de las imágenes, asemejándose a los corazones con doble salida del ventrículo derecho.

El embrión LV-595 (lámina 38) muestra un defecto similar al que hemos analizado en las figuras anteriores (LV-550). Fue fijado en el estadio 34 H.H. tras haber sido sometido a ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 16 H.H. En la figura 1 de la lámina 38 puede apreciarse la comunicación entre ventrículo derecho e infundíbulo aórtico

por encima del vértice del septum ventricular. En un corte más inferior observamos cómo se ha producido el cierre de dicha comunicación (figura 2).

La mitad inferior de esta lámina muestra las microfotografías del embrión LV-548 que alcanzó un estadio 36 H.H. cuando fue fijado, habiendo sido intervenido mediante sección del área vascular derecha en el estadio 13 H.H. A nivel bulbar la septación se produce normalmente (figuras 3 y 4) pero, en cortes inferiores, se comprueba la comunicación entre infundíbulo aórtico y ventrículo derecho por encima del septum ventricular. Esta comunicación mide 120 $\mu$ . Nos ha llamado la atención el enorme desarrollo que presenta una arteria coronaria en este embrión (figuras 4 a 7), arteria que parece comunicar con el ventrículo derecho (flechas) (figura 6).

LAMINA 37

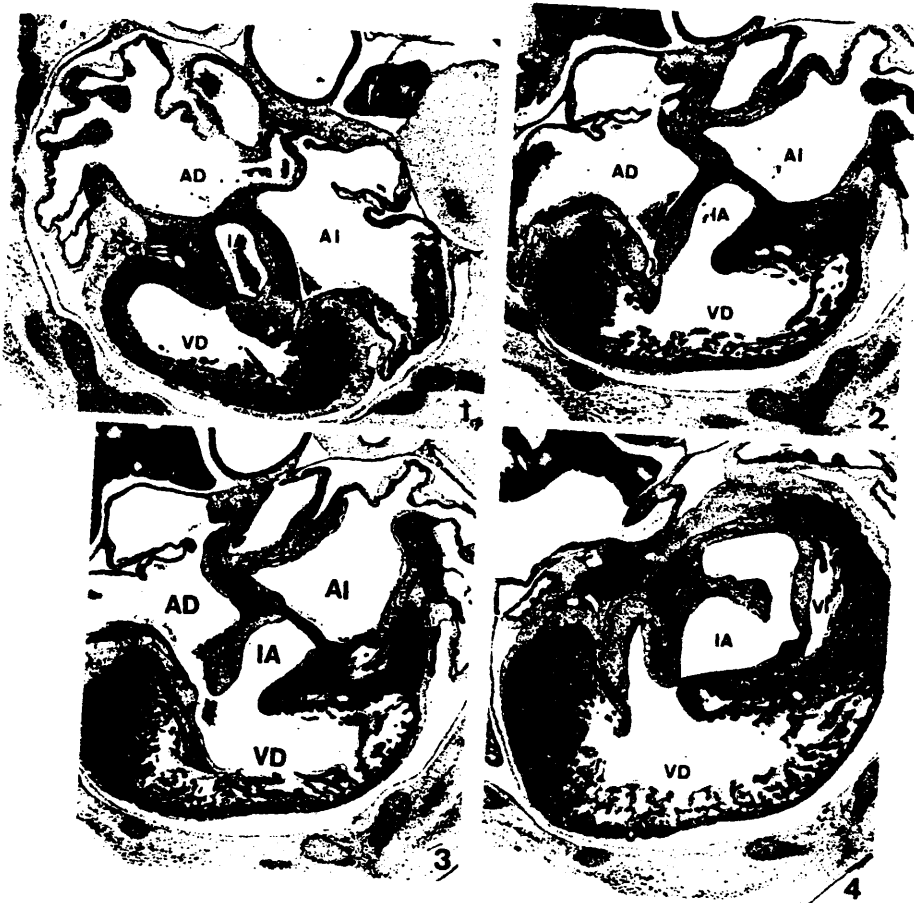
LV-550 (Estadio 35-36 H.H.)

Figura 1.- Corte del corazón embrionario a través del bulbus para observar la línea de fusión entre los rodetes bulbares (4x).

Figura 2.- El retraso en la fusión de los rodetes bulbares se prolonga en cortes inferiores como persistencia de la comunicación interventricular secundaria (4x).

Figura 3.- La cavidad ventricular izquierda y el septum ventricular quedan desplazados hacia arriba (4x).

Figura 4.- Cierre de la comunicación en un corte más caudal (4x).



LAMINA 38

LV-575 (Estadio 34 H.H.)

Figura 1.- Persistencia de la comunicación interventricular secundaria (4x).

Figura 2.- Cierre de la comunicación en un corte inferior (4x).

LV-548 (Estadio 36 H.H.)

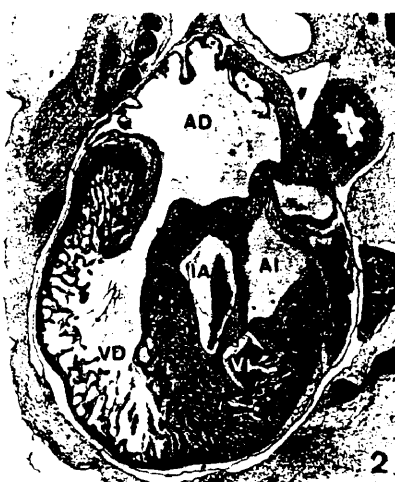
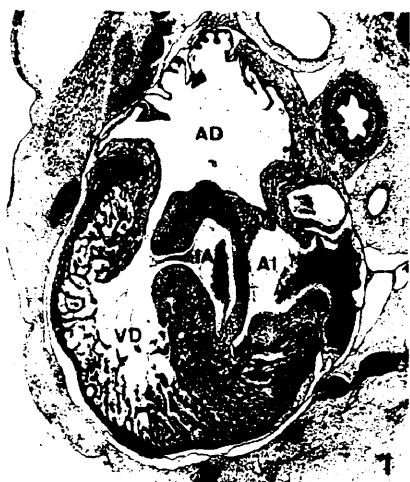
Figura 3.- Septación bulbar normal (4x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento en la que se observa el gran desarrollo de una arteria coronaria (10x).

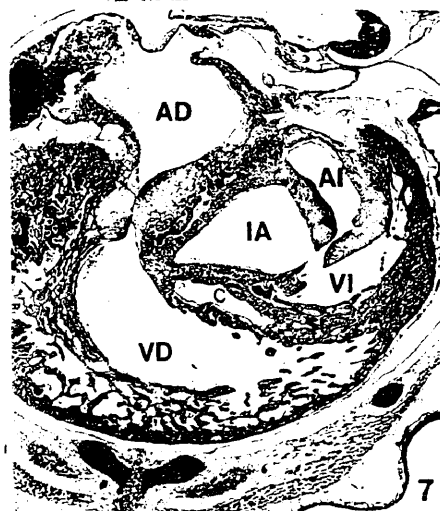
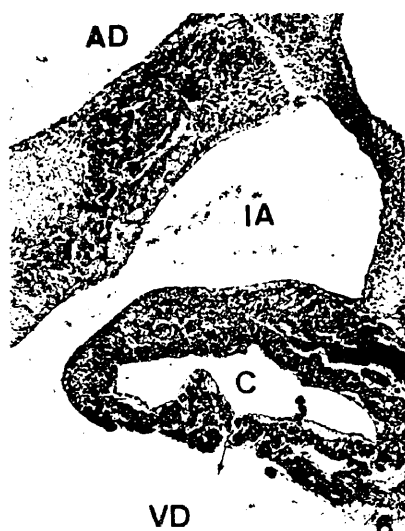
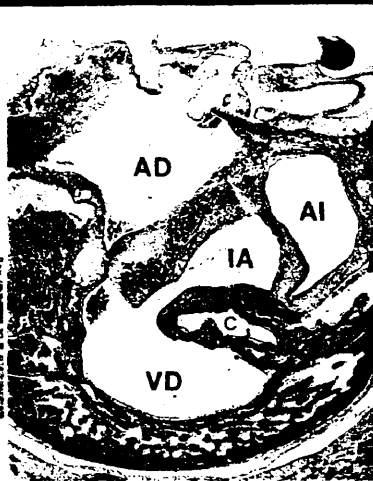
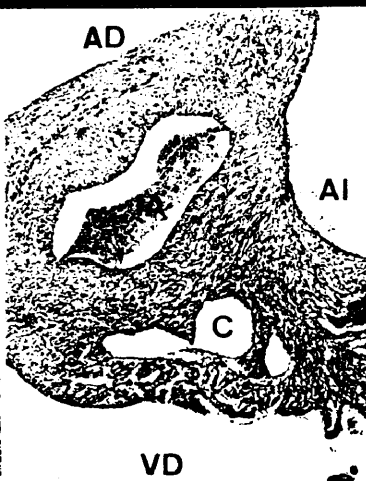
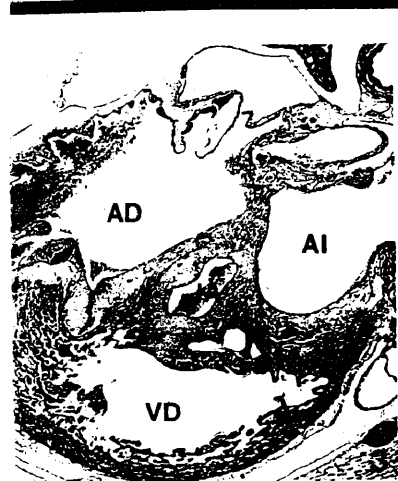
Figura 5.- Comunicación infundíbulo aórtico-ventrículo derecho por encima del septum ventricular (4x).

Figura 6.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento en la que puede apreciarse la arteria coronaria que ocupa la mayor parte del septum ventricular y que parece comunicar con el ventrículo derecho (10x).

Figura 7.- Cierre de la comunicación ventrículo-infundibular en un corte más inferior (4x).



304



Antes de finalizar este apartado de malformaciones bulbares, vamos a repasar una serie de embriones en los que se asocian malformaciones cardíacas de otra índole y malformaciones extracardiacas.

La lámina 39 muestra las microfotografías del embrión LV-507, fijado en un estadio 34-35 H.H. tras sufrir interrupción de la circulación vitelina derecha mediante introducción del gancho de Stephan en el estadio 16 H.H. A nivel de las válvulas sigmoideas aórtica y pulmonar ambos infundíbulos se comunican (figura 7), defecto que aumenta en un corte inferior (figura 8) para desaparecer posteriormente (figura 9). En las figuras 1 a 6 se aprecia ausencia de tercer arco aórtico derecho puesto que en el lugar de esta estructura aparece una formación redondeada que carece de luz en su interior. Al mismo tiempo, el sexto arco aórtico derecho presenta un diámetro muy reducido, con trayecto tortuoso (figuras 2 a 6).

Los embriones LV-30 y LV-32 pueden analizarse en la lámina 40. Ambos embriones fueron fijados en el estadio 30 H.H. tras sufrir ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos en los estadios 16-17 y 15-16 H.H. respectivamente. En el primer caso, a la comunicación interinfundibular (figuras 2 y 3) le acompaña una hipoplasia del tercer arco aórtico derecho e izquierdo y del cuarto arco aórtico derecho (figura 1). En el



LAMINA 39

LV-507 (Estadio 34-35 H.H.)

Figura 1.- Corte a través de los arcos aórticos en el que se aprecia la ausencia del tercer arco aórtico derecho (10x).

Figura 2.- Corte inferior en el que aparece también el sexto arco aórtico derecho hipoplásico (4x).

Figura 3.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).

Figura 4.- Hipoplasia del sexto arco aórtico derecho y ausencia del tercer arco aórtico derecho (4x).

Figura 5.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).

Figura 6.- La luz del sexto arco aórtico derecho se hace tortuosa e interrumpe (10x).

Figura 7.- Comunicación interinfundibular a nivel de las válvulas sigmoideas (10x).

Figura 8.- Corte inferior al anterior que sigue mostrando la comunicación (10x).

Figura 9.- Septación bulbar normal en un corte inferior (4x).



LAMINA 40

LV-30 (Estadio 30 H.H.)

Figura 1.- Corte a nivel de arcos aórticos para observar la hipoplasia que afecta al tercer arco aórtico derecho e izquierdo y cuarto arco aórtico derecho (10x).

Figura 2.- Corte horizontal a nivel bulbar donde se aprecia la línea de fusión de los rodetes bulbares (10x).

Figura 3.- Comunicación inter-infundibular en un corte inferior (4x).

LV-32 (Estadio 30 H.H.)

Figura 4.- Comunicación interinfundibular (4x).

Figura 5.- Junto a la comunicación interinfundibular, se aprecia falta de fusión de los cojinetes atrio-ventriculares (10x).



1



2



3



4



5

segundo embrión volvemos a observar una comunicación interinfundibular (figuras 4 y 5) que se asocia a retraso en la fusión de los cojinetes atrio-ventriculares (figura 5).

El embrión LV-402 (lámina 41), fijado en un estadio 30 H.H., fue intervenido mediante cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos en el estadio 18 H.H. Este embrión presenta una comunicación interinfundibular (lámina 41: figura 2) que, en cortes inferiores, se hace ventrículo-infundibular persistiendo con un calibre importante (figura 3) para desaparecer posteriormente (figura 4). Puede observarse también un sexto arco aórtico derecho hipoplásico (figura 1).

En la mitad inferior de la lámina 41 figuran las microfotografías correspondientes al embrión LV-603 fijado en el estadio 30 H.H. tras la ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 15 H.H. En este embrión apreciamos una comunicación interinfundibular (figura 7) junto a una significativa microftalmia izquierda (figuras 5 y 6).

En la lámina 42 podemos observar las figuras que pertenecen al embrión LV-21 fijado en un estadio 30-31 H.H. tras ser sometido a ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 17 H.H. Se aprecia una comunicación interinfundibular por defecto en la fusión de los rodetes bulbares (figuras 3, 4 y 5) si bien en la porción más alta del bulbus, la septación acontece normalmente (figura 2). Se observa también una hipoplasia del miembro superior izquierdo (figura 1).

El embrión LV-59 (lámina 43) presenta una comunicación

interinfundibular (figuras 2 y 3) que, posteriormente, persiste entre ventrículo derecho e infundíbulo aórtico (figuras 4, 5 y 6) para desaparecer en cortes más inferiores (figura 7). Puede observarse una hipoplasia del rodete bulbar septal o izquierdo (figura 6). Se le asocia una microftalmía izquierda (figura 1). Este embrión alcanzó un estadio 31-32 H.H. tras ser intervenido en el estadio 18 H.H. mediante ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos .

LAMINA 41

LV-402 (Estadio 30 H.H.)

Figura 1.- Corte a nivel de arcos aórticos para mostrar la hipoplasia del sexto arco aórtico derecho (10x).

Figura 2.- Comunicación interinfundibular de gran tamaño (10x).

Figura 3.- Comunicación ventrículo derecho-infundíbulo aórtico en un corte inferior (4x).

Figura 4.- Septación bulbo-ventricular normal en un corte inferior (4x).

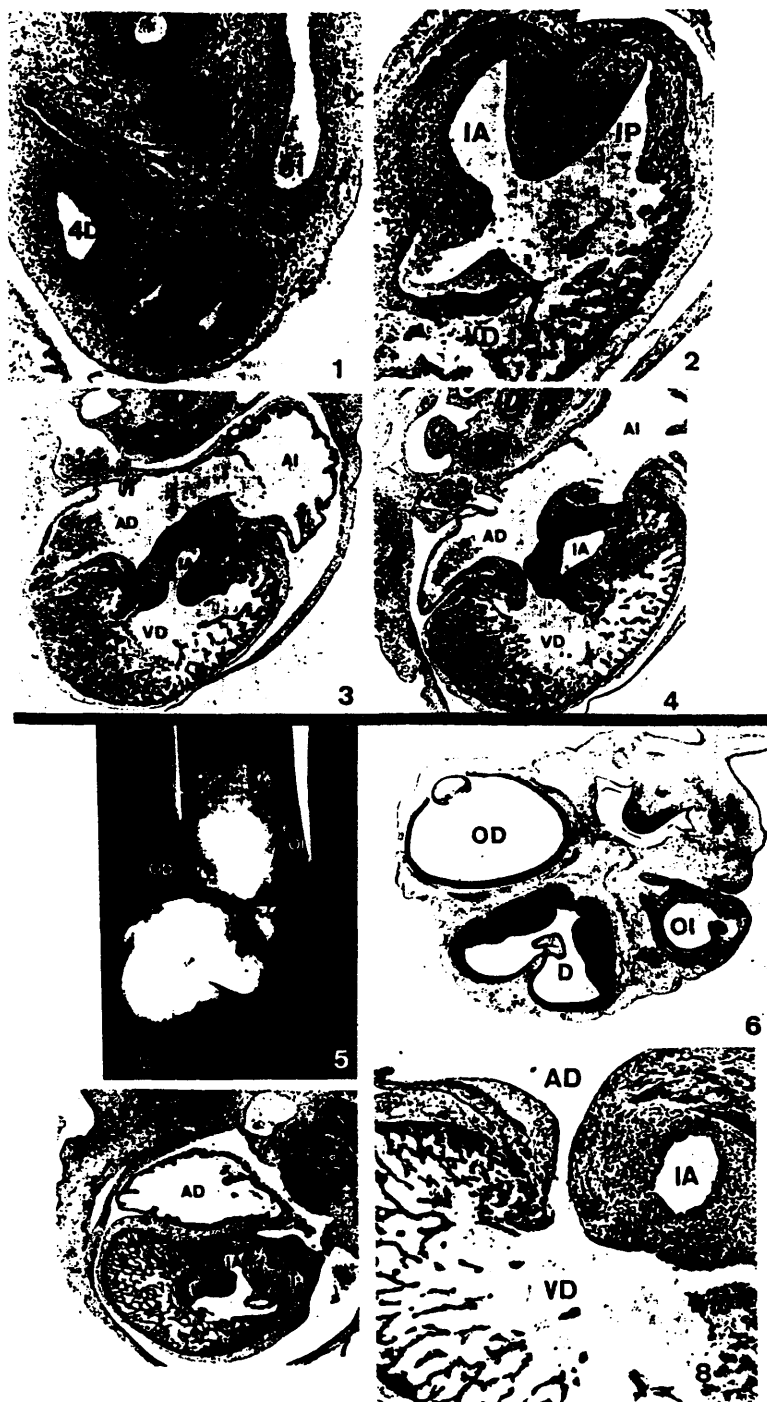
LV-603 (Estadio 30 H.H.)

Figura 5.- Macrofotografía del embrión por su cara ventral para mostrar la microftalmia izquierda (1,3x).

Figura 6.- Corte simétrico de la cabeza del embrión en el que se aprecia la microftalmia izquierda (2x).

Figura 7.- Corte del corazón embrionario a nivel de las cavidades derechas para mostrar la comunicación interinfundibular (4x).

Figura 8.- Septación bulbar normal en un corte inferior (10x).





LAMINA 42

LV-21 (Estadio 30-31 H.H.)

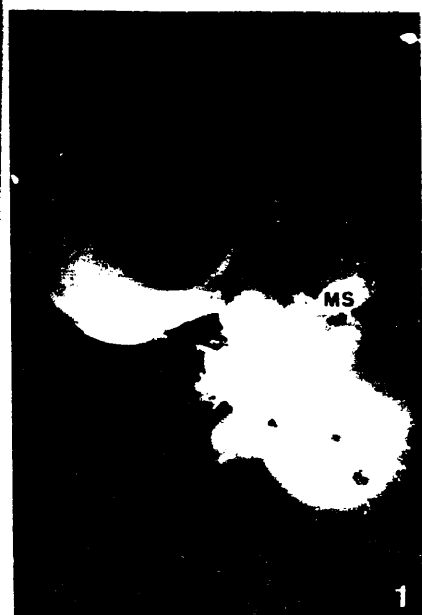
Figura 1.- Macrofotografía del embrión por su cara ventro-lateral izquierda (1x).

Figura 2.- Sección del corazón embrionario a través de la porción más alta del bulbus cordis (4x).

Figura 3.- Corte inferior al de la figura anterior en el que se aprecia el inicio de la comunicación entre aorta y arteria pulmonar (4x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).

Figura 5.- Corte inferior en el que sigue apreciándose la comunicación inter-infundibular (10x).



LAMINA 43

LV-59 (Estadio 31-32 M.H.)

Figura 1.- Visión ventro-lateral izquierda de la cabeza del embrión (1x).

Figura 2.- Sección a través de las cavidades cardíacas derechas en la que se observa la comunicación interinfundibular (4x).

Figura 3.- Corte inferior a mayor aumento para observar dicha comunicación (10x).

Figura 4.- Defecto en la fusión de los rodetes bulbares que determina la comunicación ventrículo derecho-infundíbulo aórtico (4x).

Figura 5.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento (10x).

Figura 6.- En un corte inferior seguimos observando la comunicación ventrículo-infundibular (4x).

Figura 7.- Septación ventricular normal a un nivel más inferior (4x).



317



**5.- MALFORMACIONES TRUNCALES**

5.1.- Ausencia de septum aorto-pulmonar: LV-28; LV-233.

5.2.- Ventana aorto-pulmonar: LV-48.

### 5. MALFORMACIONES TRUNCALES

Las malformaciones a nivel del truncus arteriosus se han presentado con una frecuencia muy baja: 1,81% de todas las malformaciones y 0,94% con respecto a los embriones fijados.

#### 5.1.- Ausencia de septum aorto-pulmonar.

Un ejemplo característico de este defecto puede examinarse en la lámina 44. El embrión LV-233 fue fijado en un estadio 24-25 H.H. tras sufrir cauterización y sección de los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 18 H.H. La ausencia de septum aorto-pulmonar puede apreciarse en los cortes seriados de las figuras 2 a 6. Junto a este defecto, objetivamos una microftalmia izquierda (figura 1).

#### 5.2.- Ventana aorto-pulmonar.

En otro de los embriones, LV-48, pudo objetivarse un defecto parcial en la septación trunca comunicando la aorta con la arteria pulmonar.

LAMINA 44

LV-233 (Estadio 24-25 H.H.)

Figura 1.- Corte simétrico de la cabeza del emorión que muestra la microftalmia izquierda (10x).

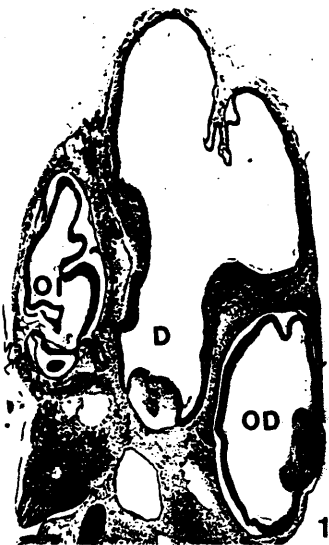
Figura 2.- Sección a través de los arcos aórticos tercero y cuarto, truncus arteriosus y bulbus cordis para observar la ausencia de septum aorto-pulmonar (4x).

Figura 3.- Corte inferior en el que sigue observándose la ausencia de dicho septum (4x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento. Los rodetes bulbares hacen relieve en su luz (10x).

Figura 5.- Sección más caudal a nivel de cuarto arco aórtico, cavidades auriculares y bulbus cordis (4x).

Figura 6.- Corte inferior al de la figura anterior en el que se aprecian las mismas estructuras (4x).





6.- MALFORMACIONES DE ARCOS AÓRTICOS

6.1.- Ausencia de tercer arco aórtico derecho: LV-211;  
LV-507.

6.2.- Hipoplasia de tercer arco aórtico derecho e  
izquierdo y cuarto arco aórtico derecho: LV-30.

6.3.- Persistencia de cuarto arco aórtico izquierdo:  
LV-62; LV-294.

6.4.- Ausencia de sexto arco aórtico: LV-70; LV-143;  
LV-147.

6.5.- Hipoplasia de sexto arco aórtico derecho: LV-402;  
LV-504; LV-507.

6.6.- Hipertrofia del sexto arco aórtico e hipoplasia del  
cuarto arco aórtico: LV-477.

#### 6. MALFORMACIONES DE ARCOS AÓRTICOS

La frecuencia de este grupo malformativo asciende a 7,27% de todas las malformaciones producidas y 3,78% de los embriones fijados.

Al describir los grupos anteriores de malformaciones hemos visto cómo se asocian defectos que afectan a los arcos aórticos en determinadas ocasiones. A continuación, exponemos otros dos ejemplos de malformaciones a nivel de arcos aórticos.

El embrión LV-211 (lámina 45) fue fijado en el estadio 34 H.H. tras ser sometido a cauterización y sección de vasos vitelinos izquierdos en el estadio 22-23 H.H. En los cortes superiores (figuras 1 y 2), el tercer arco aórtico derecho es una formación redondeada que no presenta luz en su interior. En un corte inferior (figura 3) apreciamos la disposición normal de los arcos aórticos.

En la mitad inferior de la lámina 45 podemos apreciar las microfotografías del embrión LV-62 que presenta persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo (figuras 5 y 6) puesto que corresponde a un estadio 31-32 H.H.

LAMINA 45

LV-211 (Estadio 34 H.H.)

Figura 1.- Sección a nivel de arcos aórticos para apreciar la ausencia del tercer arco aórtico derecho (4x).

Figura 2.- Corte más inferior en el que sigue apreciándose la ausencia del tercer arco aórtico derecho (4x).

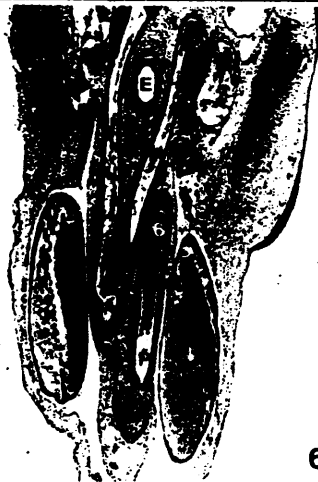
Figura 3.- Disposición normal de los arcos aórticos en un corte inferior (4x).

Figura 4.- Septación aorto-pulmonar normal en la unión truncus-bulbus (4x).

LV-62 (Estadio 31-32 H.H.)

Figura 5.- Persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo (4x).

Figura 6.-En un corte inferior sigue apreciándose la misma anomalía (4x).



7.- OTRAS MALFORMACIONES CARDIACAS

7.1.-- Ectopia cordis: LV-101; LV-477; LV-498.

## 7. OTRAS MALFORMACIONES CARDIACAS

### 7.1.- Ectopia cordis.

Se presenta con una frecuencia del 1,81% con respecto a todas las malformaciones y 0,94% con respecto a los embriones fijados.

Con anterioridad hemos observado dos ejemplos de ectopia cordis : LV-498 (láminas 7 y 8) y LV-477 (láminas 27 y 28).

En la lámina 46 podemos examinar las microfotografías del embrión LV-101 fijado en el estadio 34-35 H.H. tras sufrir ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 16-17 H.H. En este embrión, la ectopia cordis se acompaña de celosomía (figuras 1, 2 y 3). En la figura 2 se observa cómo el corazón queda desplazado de la cavidad torácica en sentido ventral. De forma análoga, el hígado también queda desplazado en el mismo sentido (figura 3).

LAMINA 46

LV-101 (Estadio 34-35 H.H.)

Figura 1.- Corte del corazón ectópico a nivel de ventrículo derecho y cavidades auriculares (4x).

Figura 2.- Ectopia cordis y celosomía (2x).

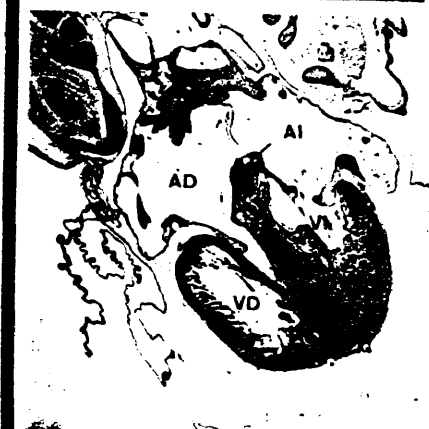
Figura 3.- A nivel hepático podemos seguir observando el desplazamiento anterior y la celosomía (2x).

LV-103 (Estadio 36 H.H.)

Figura 4.- Sección del corazón embrionario que pasa a través de las cuatro cavidades cardíacas para observar la celosomía (2x).

Figura 5.- En un corte inferior sigue apreciándose la celosomía (2x).

Figura 6.- Celosomía a nivel de la porción trabeculada del ventrículo izquierdo (2x).



5



6



MALFORMACIONES EXTRA-CARDIACAS

1.- ALTERACIONES EN LA MORFOLOGIA GENERAL DEL CUERPO  
EMBRIONARIO

1.1.- Pérdida de la curvatura normal de la columna  
vertebral: LV-8; LV-361.

1.2.- Hipoplasia de hemicuerpo izquierdo: LV-28.

1.3.- Hipoplasia de miembro superior izquierdo: LV-21;  
LV-64; LV-360.

1.4.- Celosomia: LV-101; LV-103; LV-104; LV-275; LV-317;  
LV-326; LV-477; LV-498; LV-567; LV-593.

**2.- ALTERACIONES EN EL DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO**

2.1.- Hipoplasia del sistema nervioso central en el lado izquierdo: LV-575.

2.2.- Hipoplasia del lóbulo óptico izquierdo: LV-332.

2.3.- Exencefalia: LV-586.

2.4.- Raquisquisis: LV-348; LV-352; LV-360; LV-426; LV-498; LV-586; LV-593.

3.- ALTERACIONES EN EL DESARROLLO OCULAR

3.1.- Anoftalmia izquierda: LV-586.

3.2.- Microftalmia izquierda: LV-56; LV-59; LV-150;  
LV-233; LV-319; LV-324; LV-332; LV-338; LV-346; LV-360; LV-361;  
LV-460; LV-482; LV-516; LV-539; LV-575; LV-603.

3.3.- Microftalmia derecha: LV-57.

#### MALFORMACIONES EXTRACARDÍACAS

Al describir los distintos apartados de malformaciones cardíacas, hemos examinado embriones con defectos en otras localizaciones: LV-575 (lámina 6), LV-498 (láminas 7 y 8), LV-8 (lámina 9), LV-56 (láminas 24 y 25), LV-477 (láminas 27 y 28), LV-603 (lámina 41), LV-21 (lámina 42), LV-59 (lámina 43), LV-233 (lámina 44) y LV-101 (lámina 46).

Las malformaciones extracardíacas han sido agrupadas de la siguiente forma:

1.- Alteraciones en la morfología general del cuerpo o extremidades del embrión. Incluye:

1.1.- Pérdida de la curvatura normal de la columna vertebral.

1.2.- Hipoplasia de hemicuerpo izquierdo.

1.3.- Hipoplasia de miembro superior izquierdo.

1.4.- Celosomía.

Su frecuencia asciende a 9,69% de todas las malformaciones y a 5,04% de los embriones fijados. En este grupo destaca la celosomía como malformación más frecuente: 6,06% y 3,15% respectivamente.

2.- Alteraciones en el desarrollo del sistema nervioso. En

este grupo hemos encontrado:

2.1.- Hipoplasia del sistema nervioso central en el lado izquierdo.

2.2.- Hipoplasia del lóbulo óptico izquierdo.

2.3.- Exencefalia.

2.4.- Raquisquisis.

Su frecuencia es de 6,06% con respecto al total de malformaciones y 3,15% con respecto a los embriones fijados. La raquisquisis es la más frecuente de las malformaciones de este segundo grupo: 4,24% y 2,20% respectivamente.

3.- Alteraciones en el desarrollo ocular. Las alteraciones oculares obtenidas son:

3.1.- Anoftalmia izquierda.

3.2.- Microftalmia izquierda.

3.3.- Microftalmia derecha.

Se presentan con una frecuencia de 11,51% con respecto a todas las malformaciones y 5,99% con respecto a los embriones fijados. De este tercer apartado, la microftalmia izquierda es el defecto más frecuente: 10,30% y 5,36% respectivamente.

En la lámina 46 observamos las microfotografías del embrión LV-103 fijado en el estadio 36 H.H. y que presenta celosomía como puede verse en las figuras 4, 5 y 6.

El embrión LV-586 (lámina 47) fue intervenido mediante ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 16 H.H. alcanzando un estadio 32 H.H. en el momento de

LAMINA 47

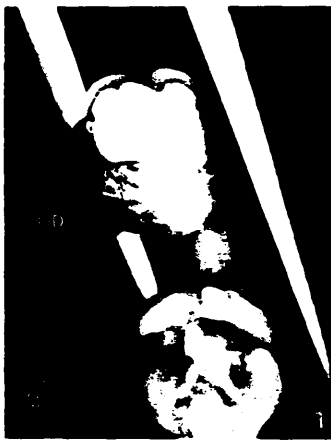
LV-586 (Estadio 32 H.H.)

Figura 1.- Macrofotografía del embrión por su cara ventral (1,3x).

Figura 2.- Sección a través de la cabeza para mostrar la ausencia del ojo izquierdo y la disposición anómala del sistema nervioso central (10x).

Figura 3.- Macrofotografía del embrión por su cara dorsal para mostrar la raquisquisis (2x).

Figura 4.- Corte del cuerpo embrionario para observar el defecto en el cierre del tubo neural (4x).



su fijación. No se observan malformaciones a nivel cardíaco, pero puede apreciarse una exencefalia unida a anoftalmía izquierda y raquisquisis (lámina 47: figuras 1 a 4).

A continuación presentamos cuatro ejemplos de microftalmía izquierda que ha sido la malformación extracardiaca más frecuentemente obtenida como ya hemos visto.

En la lámina 48 se aprecian las imágenes correspondientes a los embriones LV-539 y LV-150 fijados en los estadios 23 y 27 H.H. respectivamente. El primero fue intervenido mediante introducción del gancho de Stephan a nivel de los vasos vitelinos derechos en el estadio 16-17 H.H., mientras que al segundo se seccionó el área vascular izquierda en el estadio 11 H.H. En las figuras 1 a 4 puede observarse la diferencia en el desarrollo ocular.

El embrión LV-482 (lámina 49) fue fijado en el estadio 33 H.H. mientras que el embrión LV-516 se fijó en el estadio 34 H.H. (lámina 49). Ambos embriones fueron sometidos a cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos. En las figuras 1 a 4 puede observarse la enorme diferencia en el tamaño que presentan ambas estructuras oculares. Además, el ojo izquierdo presenta un desarrollo anómalo (figura 4). La figura 5 muestra la microftalmía izquierda en el embrión LV-516.



LAMINA 48

LV-539 (Estatio 23 H.H.)

Figura 1.- Corte simétrico a través de la cabeza del embrión para mostrar la diferencia de tamaño que presentan los ojos (10x).

Figura 2.- En un corte inferior sigue observándose dicha diferencia (10x).

LV-150 (Estatio 27 H.H.)

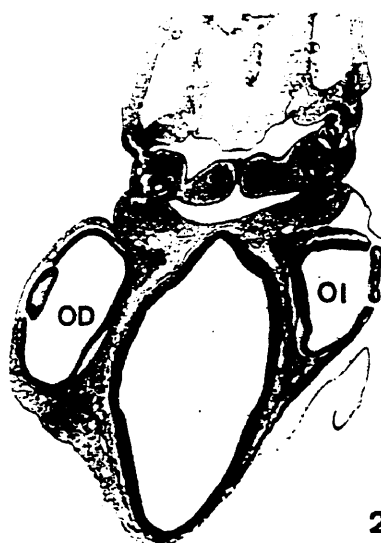
Figura 3.- Sección de la cabeza embrionaria que muestra la microftalmia izquierda (2x).

Figura 4.- Montaje fotográfico de la figura anterior a mayor aumento (10x).

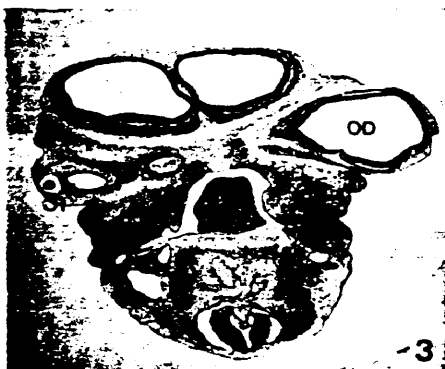
339



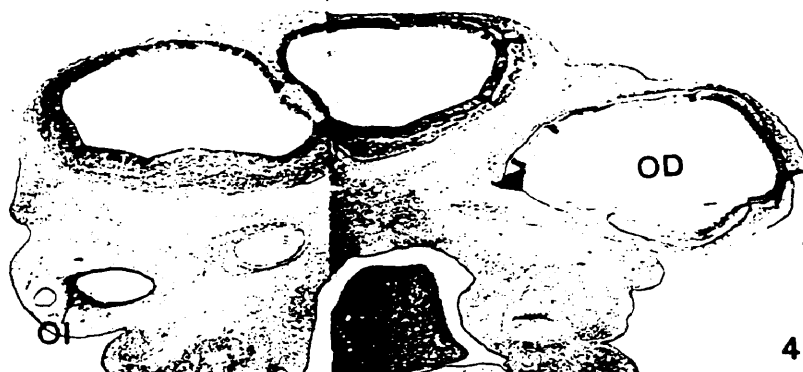
1



2



3



4

LAMINA 49

LV-482 (Estadio 33 H.H.)

Figura 1.- Macrofotografía del embrión por su cara ventral (1,3x).

Figura 2.- Macrofotografía de la cabeza que muestra el escaso desarrollo del ojo izquierdo (flecha) (2x).

Figura 3.- Sección de la cabeza del embrión en la que se aprecia la diferencia en tamaño y desarrollo de ambas estructuras oculares (4x).

Figura 4.- Detalle de la figura anterior a mayor aumento en la que se aprecia el desarrollo rudimentario del ojo izquierdo (10x).

LV-516 (Estadio 34 H.H.)

Figura 5.- Macrofotografía del embrión por su cara ventral para mostrar la microftalmia izquierda (1,3x).



## DISCUSSION

## **DISCUSION**

**- ESTUDIO ESTADISTICO**

**- ESTUDIO MORFOLOGICO**

## **ESTUDIO ESTADISTICO**

#### ESTUDIO ESTADISTICO

La supresión del aporte venoso vitelino al embrión de pollo en momentos cruciales de su desarrollo puede provocar importantes consecuencias. A lo largo del estadio 23 de H-H (4 días de incubación) la mayor cantidad de sangre oxigenada vuelve al embrión a través de las venas vitelinas que, junto con las venas subintestinales, constituyen el ductus venoso (HAMILTON, 1952). Como veremos más adelante, en el estadio 23 se producen fenómenos trascendentales en la cardiogénesis del embrión de ave: aparición del sexto arco aórtico, aparición del septum ventricular muscular, etc. (SISSMAN, 1970).

Si volvemos a considerar la circulación embrionaria en el estadio 34 de H-H (8 días de incubación) cuando prácticamente ha concluido la cardiogénesis en el embrión de pollo, se sigue comprobando que la sangre procedente de la vena vitelina, que forma parte de la vena cava posterior, llega a la aurícula derecha y pasa a la aurícula izquierda a través de los orificios del septum interatrial, para alcanzar así el ventrículo izquierdo y salir del corazón en el interior de la aorta hacia las arterias carótideas y arco aórtico (HAMILTON, 1952).

Al analizar los resultados obtenidos en nuestro trabajo de investigación, nos llama poderosamente la atención la gran



mortalidad que sufren los embriones intervenidos, mortalidad que, considerada globalmente, alcanza el 73,42% de los embriones operados a pesar de la frecuente aparición de revascularización tras practicar la supresión de la circulación vitelina mediante cualquiera de las técnicas empleadas. Esta cifra de mortalidad tan elevada nos hace pensar en la probable aparición de malformaciones cardíacas incompatibles con la vida ya en estadios precoces del desarrollo y que, en muchas ocasiones, no hemos podido estudiar histológicamente dado el intenso grado de maceración y de reabsorción que sufren estos embriones.

Si consideramos dos grandes grupos de embriones intervenidos según se haya suprimido la circulación vitelina izquierda o derecha, nos encontramos con otro dato interesante: la mortalidad global para todos los embriones intervenidos en el lado izquierdo es de 68,37% mientras que para los intervenidos en el lado derecho asciende a 75,77%. Este incremento en la mortalidad para el lado derecho podría quedar justificado por el mayor calibre de la corriente derecha a lo largo del tercer día de desarrollo (ROMANOFF, 1960), momento en el que practicamos la mayor parte de nuestras intervenciones.

Al valorar la supervivencia con relación al estadio de intervención, observamos que la mayor población de embriones, tanto intervenidos como supervivientes en valor absoluto, se localiza alrededor de los estadios 16 a 18 de H-H para disminuir en los periodos previos y posteriores (Tabla I).

Estos estadios corresponden a la fase de individualización y desarrollo de los vasos vitelinos ofreciendo las mejores posibilidades para su acceso quirúrgico con el menor número de complicaciones postoperatorias.

Para analizar cómo evoluciona la supervivencia en los diferentes estadios de intervención, debemos detenernos en la Gráfica 1. Entre el estadio 10 y 14 de H-H se produce una significativa disminución de la supervivencia. Este período corresponde con la sección del área vascular en los lados derecho o izquierdo puesto que todavía no se han individualizado los vasos vitelinos. Deducimos que la sección del área vascular es cada vez más agresiva según avanza la diferenciación del embrión.

En el estadio 16 de H-H se produce otro máximo de supervivencia que se encuentra relacionado con las mejores condiciones técnicas como ya hemos mencionado. Además, en este período debe resultar efectiva la acción vicariante del flujo que procede de otros vasos próximos o de la revascularización en la zona intervenida que tan frecuentemente hemos comprobado.

A partir del estadio 16 de H-H se produce otra disminución de la supervivencia que es más llamativa entre los estadios 19 y 21 de H-H. En esta fase existe un mayor aflujo sanguíneo al embrión que dificulta las intervenciones, por un lado, y un mayor desarrollo embrionario que exige mayor demanda, por otro.

En el estadio 22 de H-H podemos observar otro máximo de supervivencia que, para nosotros, guarda relación con la persistencia de la vena vitelina anterior puesto que en

embriones controles presenta un flujo despreciable en esta fase de desarrollo y, sin embargo, adquiere un flujo considerable cuando suprimimos la circulación a través de la vena vitelina izquierda o derecha.

En la Tabla II figuran los datos correspondientes a supervivencia y pérdida de desarrollo con respecto a las diferentes técnicas de intervención empleadas. Si observamos individualmente los datos de supervivencia porcentual en cada técnica, llama la atención la enorme disminución en  $D_1$  e  $I_1$  frente a  $I_2$  y  $D_2$ . En el caso de la sección del Área vascular en el lado derecho ( $D_1$ ), la supresión de dicha área interfiere directamente con el desarrollo posterior del embrión si consideramos que el tiempo medio de reincubación para el lado derecho ha sido de 65 horas tras la intervención, momento en el que la corriente derecha es de mayor importancia que la izquierda.

Con respecto a la elevada mortalidad que presentan los embriones sometidos a supresión de la circulación vitelina mediante introducción del gancho de Stephan en el lado izquierdo ( $I_1$ ) nos parece que guarda relación con la dificultad que presenta esta técnica en general, y sobre todo, en el lado izquierdo puesto que los vasos presentan un menor recorrido libre que en el lado derecho debido a la rotación hacia la izquierda del cuerpo embrionario y, por tanto, la introducción del gancho resulta muy dificultosa. También debemos considerar que cuando el gancho de Stephan queda bien ubicado resulta ser la técnica que mejor impide el paso de

sangre a través de la vena vitelina y la producción posterior de revascularizaciones.

La pérdida de desarrollo, que hemos podido evaluar en todos los embriones seleccionados, es mayor en los casos comentados (-2,33 estadios H-H para  $D_1$  y -2,41 para  $I_4$ ). De forma global, estas técnicas:  $D_1/I_1$  y  $D_4/I_4$  representan las mayores pérdidas de desarrollo de los embriones que hemos estudiado.

En la Gráfica 2 podemos observar que el mayor número de embriones intervenidos y supervivientes, tomados en valor absoluto, corresponde a las técnicas  $D_3$  o cauterización de los vasos vitelinos en el lado derecho e  $I_2$  o ligadura y sección de la vena vitelina izquierda mediante presión y posterior tracción. En el lado izquierdo y, debido a la disposición del embrión que rota en este sentido, los tipos de intervención técnicamente más complicados:  $I_3$  o microcauterización e  $I_4$  o introducción del gancho de Stephan producen resultados más pobres. Por el contrario, en el lado derecho los tipos  $D_3$  y  $D_4$  han resultado ser las técnicas más ventajosas a pesar del factor de mayor volumen de esta corriente en el momento en que intervenimos a nuestros embriones. Las restantes técnicas  $D_1$  y  $D_2$  nos han producido importantes hemorragias postoperatorias que justifican la escasa supervivencia.

La Gráfica 3 muestra la relación entre la supervivencia porcentual y las diferentes técnicas de intervención. Llama la atención que la supervivencia media no supera el 30% a excepción de la sección del área vascular en el lado izquierdo

( $I_1$ ) y los embriones controles (C), es decir, la supresión de la circulación vitelina resulta ser muy agresiva para el embrión en desarrollo. Seguimos observando, como en la gráfica anterior, que las técnicas 3 y 4 son menos agresivas en el lado derecho mientras que, por el contrario, las técnicas 1 y 2 producen mayor supervivencia en el lado izquierdo.

En la Gráfica 4 podemos visualizar la representación de los datos correspondientes a pérdida de desarrollo en las diferentes técnicas de intervención, y como ya hemos mencionado al discutir los valores obtenidos en la Tabla II, las mayores pérdidas corresponden a  $D_1$  e  $I_4$ . Las técnicas  $D_3$  e  $I_2$ , con buenos resultados en cuanto a supervivencia, permiten también un aceptable desarrollo de estos embriones supervivientes puesto que su pérdida de desarrollo se aproxima a los embriones controles.

En el caso de la sección del Área vascular en el lado izquierdo ( $I_1$ ), con buena supervivencia (Gráfica 3) y pérdida de desarrollo en valores medios (Gráfica 4), parece ser que el aporte sanguíneo disminuye lo suficiente para provocar lesiones que inhiben el desarrollo embrionario sin producir la muerte del embrión en muchos casos.

Por otro lado, la cauterización de los vasos vitelinos en el lado izquierdo ( $I_3$ ) es tan agresiva que sólo permite la supervivencia de los embriones estadísticamente resistentes de la distribución de Gauss sin provocar siquiera pérdida de desarrollo en ellos. Cabe la posibilidad de que mínimas diferencias técnicas en este tipo de intervención permitan la

supervivencia de algunos embriones con escasa pérdida de desarrollo.

Otro de los parámetros que hemos introducido en la valoración del desarrollo embrionario es la longitud vértex-cóccix (Tabla III; Gráficas 5 y 6). Analizando comparativamente las Gráficas 5 y 6, en las que representamos la pérdida de desarrollo y la longitud vértex-cóccix respectivamente en relación al estadio de intervención, comprobamos cómo estos parámetros desarrollan curvas casi paralelas a partir del estadio 14 de H-H, es decir, la pérdida de desarrollo resulta coherente con la longitud vértex-cóccix alcanzada. Hasta el estadio 13 de H-H incluido, con independencia del estadio de intervención, presentan una longitud vértex-cóccix homogénea. Por el contrario, la pérdida de desarrollo es tanto menor conforme más pequeño es el embrión debido probablemente a que la sección del área vascular resulta menos agresiva en los embriones más jóvenes e indiferenciados, inhibiendo menos su posterior desarrollo, al tiempo que las revascularizaciones se producen con mayor facilidad. Entre los estadios 12 y 13 de H-H existe una brusca recuperación de la pérdida de desarrollo alcanzando un valor positivo en el estadio 13 de H-H (0,12).

En la Gráfica 5, y a partir del estadio 14 de H-H, observamos dos mínimos de pérdida de desarrollo correspondientes a los estadios 16 y 22 de H-H respectivamente; mientras tanto, en la Gráfica 6 aparecen dos máximos de longitud vértex-cóccix en los estadios 16 y 23 de H-H. Estos

datos apoyan la buena correlación existente entre pérdida de desarrollo y longitud vértex-cóccix para los embriones intervenidos en los estadios 16 y 22-23 de H-H. Para el estadio 16 de H-H, este hecho puede deberse a las buenas condiciones técnicas que ofrece el embrión en esta etapa: fácil acceso a los vasos vitelinos, menor número y volumen de hemorragias post-intervención, etc. Entre los estadios 20 y 23 de H-H hemos observado el mayor número de revascularizaciones junto con la persistencia de la vena vitelina anterior en nuestros embriones intervenidos lo que podría justificar la correlación de pérdida de desarrollo y longitud vértex-cóccix que se aprecia en los estadios 22-23 de H-H.

Como hemos podido comprobar al analizar las Gráficas 5 y 6, la longitud vértex-cóccix obtenida a partir de nuestros embriones intervenidos debe ser incluida como un parámetro más de desarrollo a partir del estadio 13 de H-H puesto que sigue una distribución análoga a los demás parámetros de la curva de pérdida de desarrollo.

En la Tabla IV y Gráficas 7, 8, 9 y 10 se analiza la presencia de malformaciones cardíacas, extracardíacas y la suma de ambas en relación al estadio de intervención. En la Gráfica 7, que expresa la presencia de malformaciones cardíacas porcentualmente, puede observarse la agrupación de dichas malformaciones entre los estadios 11 y 22 de H-H con un máximo en el estadio 15 de H-H y un mínimo en el estadio 20 de H-H.

Los embriones intervenidos en el estadio 15 de H-H fueron fijados alrededor del estadio 27 de H-H, momento éste en el

que se inician los diferentes procesos de septación cardíaca y, por tanto, la posibilidad de producción de malformaciones cardíacas alcanza su punto máximo. Por el contrario, y aunque parezca paradójico, los embriones intervenidos en el estadio 20 de H-H no sobrepasan -como valor medio de supervivencia- el estadio 25 de H-H en el momento de la fijación y todavía no se han iniciado los fenómenos de septación a diferentes niveles, origen de distintas malformaciones como veremos más adelante. Por otro lado, debemos destacar que en el estadio 15 de H-H se producen importantes eventos en la cardiogénesis del embrión de pollo: aparición del septum primum, fusión de las aortas dorsales, constitución definitiva del tercer arco aórtico, etc. (SISMAN, 1970).

En los estadios 18 y 21 de H-H se registran cifras altas de producción de malformaciones cardíacas: 33,82% y 33,33% respectivamente. Los embriones intervenidos en el estadio 18 de H-H alcanzan -como media de supervivencia- el estadio 28 de H-H en el momento de la fijación y, al igual que vimos anteriormente con el estadio 15 de H-H, incluye la iniciación de los procesos de septación cardíaca que podrían verse afectados de esta forma. Por el contrario, los embriones intervenidos en el estadio 21 de H-H han sido fijados en los estadios 24-25 de H-H pero es difícil sacar conclusiones de este estadio por el escaso número de embriones existentes.

La Gráfica 8 muestra la relación entre malformaciones extracardíacas expresadas porcentualmente y estadios de intervención. Este tipo de malformaciones es, en general,



menos frecuente que las malformaciones cardíacas y se agrupan entre los estadios 13 y 21 de H-H presentando dos máximos en los estadios 16 y 20 de H-H y un mínimo en el estadio 19 de H-H. A lo largo de los estadios 15 y 18 de H-H quedan constituidos definitivamente los arcos aórticos tercero y cuarto respectivamente, y de ellos depende la vascularización embrionaria en estos momentos. Por consiguiente, la supresión del aporte venoso vitelino en uno de los lados supone una reducción de flujo y, sobre todo, de oxígeno, a las regiones que irrigan los arcos aórticos mencionados más arriba. De esta forma, nos podemos explicar las malformaciones extracardiacas que se presentan en nuestros embriones: raquisquisis, malformaciones oculares y del sistema nervioso, etc. Algunas de estas malformaciones extracardiacas obtenidas responden a la influencia directa de la técnica empleada, sobre todo en el caso de microcauterizaciones, puesto que el cuerpo embrionario se encuentra muy próximo. En este grupo incluimos la celosomía y, secundariamente a ella, la ectopia cardíaca; hipoplasia de miembro superior izquierdo, etc.

Si comparamos las Gráficas 7 y 8 podemos observar cómo las malformaciones cardíacas y extracardiacas presentan un comportamiento diferente. En el estadio 15 de H-H las malformaciones cardíacas presentan un máximo mientras que las extracardiacas muestran un punto de inflexión negativo, probablemente debido a que la cardiogénesis temprana se ve afectada en los embriones intervenidos precozmente y el resto

de estructuras que englobamos en las malformaciones extracardiacas presentan un máximo en el estadio 16 de H-H y, posteriormente, en el estadio 20 de H-H. Entre los estadios 16 y 19 de H-H, ambas curvas son simétricas pero de signo contrario, siendo positiva para las malformaciones cardíacas y negativa para las extracardiacas, es decir, este período parece más decisivo en la morfogénesis cardíaca que en la morfogénesis de otras estructuras embrionarias. Tras este período, se produce un máximo en el estadio 21 de H-H para las malformaciones cardíacas mientras que las extracardiacas ya lo han presentado en el estadio 20 de H-H.

Las Gráficas 9 y 10 representan la suma de malformaciones cardíacas y extracardiacas porcentualmente, con respecto al estadio de intervención, mediante un diagrama de líneas y en forma tridimensional respectivamente. Si las analizamos conjuntamente, deducimos que existen dos períodos malformativos máximos: uno, entre los estadios 14 y 18 de H-H con máximo en el 16 y otro en los estadios 20 y 22 de H-H con máximo en el 21. El primero coincide con la formación de los vasos vitelinos, fuente importante de flujo sanguíneo rico en oxígeno y nutrientes. En el segundo período (estadios 20 a 22 de H-H), las venas vitelinas siguen representando el mayor aporte de sangre oxigenada al embrión y, además, aumentan las complicaciones técnicas inherentes a las intervenciones.

Para los embriones operados entre los estadios 14 y 18 de H-H el estadio obtenido, en valor medio, es el 27 de H-H y para los intervenidos entre los estadios 20 y 22 de H-H, el estadio

obtenido es el 26-27 de H-M, es decir, quedan implicados los periodos más vulnerables en la embriogénesis tanto del corazón como del sistema nervioso y estructuras oculares.

En la Tabla V realizamos un análisis de la asociación de malformaciones cardíacas y extracardiacas entre sí mediante la aplicación de la probabilidad condicionada. La probabilidad de que se asocie una malformación cardíaca con una o más extracardiacas  $P(A_1/B)$  es más frecuente que la aparición aislada de una malformación extracardiaca  $P(B)$ .

La probabilidad de que se asocie una malformación extracardiaca con una o más cardíacas  $P(B/A)$  es inferior a la probabilidad que presenta una o más malformaciones extracardiacas aisladas  $P(B)$  pero mayor que la asociación de dos, tres o cuatro malformaciones cardíacas con extracardiacas  $P(A_2/B)$ ,  $P(A_3/B)$  y  $P(A_4/B)$ . Los dos grupos de malformaciones son fenómenos dependientes por lo que es fácil explicar la asociación de una malformación cardíaca con otra extracardiaca.

En las Tablas VI, VII, VIII y IX figuran los datos correspondientes al análisis de correlación entre la supervivencia y los dos grupos de malformaciones consideradas: cardíacas y extracardiacas, así como la suma de ambas. El análisis de la varianza y la distribución de Student aplicados a las relaciones entre supervivencia y aparición de malformaciones, bien sean cardíacas, extracardiacas o la suma de ambas, nos indica que se trata de fenómenos relacionados aunque no estrechamente. Si hubiéramos podido estudiar histológicamente los embriones macerados y descubrir la

presencia de malformaciones en ellos, el análisis de correlación entre los embriones y sus malformaciones hubiera resultado más significativo.

La Tabla X y las Gráficas 11, 12, 13 y 14 muestran la distribución de malformaciones cardíacas, extracardíacas y la suma de ambas en relación a las diferentes técnicas de intervención. Puede observarse fácilmente que la mayor proporción de malformaciones, tanto cardíacas como extracardíacas, corresponde a las intervenciones  $D_3$  o cauterización y sección de los vasos vitelinos en el lado derecho e  $I_2$  o ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos mediante presión y posterior tracción. Estas técnicas son bien toleradas por los embriones como veíamos al analizar la supervivencia y los parámetros de desarrollo.

En la Tabla X podemos comprobar cómo el mayor número de malformaciones cardíacas y extracardíacas corresponde a la técnica  $D_3$  puesto que impedimos la circulación vitelina derecha con mejores resultados a través de la microcauterización. En el caso de  $I_2$ , el número de malformaciones de los dos grupos disminuye dada la compensación del flujo a través de la vena vitelina derecha que ofrece un mayor volumen de sangre en esta fase del desarrollo. En las razas que hemos empleado no existe distribución metamérica de las estructuras vasculares como sucede en la raza Leghorn y, por tanto, puede producirse un efecto vicariante del vaso que falta por parte de otro más o menos próximo.

Las Tablas XI y XI bis representan las modificaciones de

desarrollo inducidas por cada tipo de intervención. A partir de los datos expresados en estas tablas y dividiendo la longitud vértex-cóccix (mm) entre el estadio obtenido (horas) obtenemos un nuevo parámetro denominado "Crecimiento Medio" y cuyos valores para cada tipo de intervención podemos ver en Resultados: Estudio Estadístico.

Observamos un Crecimiento Medio similar a los controles en los grupos  $D_3$ ,  $D_4$  e  $I_2$  independientemente del estadio en que han sido intervenidos y en función de las horas de reincubación. La técnica  $D_4$  quedaría excluida por la mayor pérdida de desarrollo que produce con respecto a  $D_3$  e  $I_2$ . En el caso de la supresión de la vena vitelina derecha por introducción del gancho de Stephan ( $D_4$ ) y como consecuencia de la rotación del cuerpo embrionario hacia el lado izquierdo, se produce una tracción mayor de los vasos vitelinos en el lado derecho impidiendo, de forma más efectiva, el aflujo de sangre al embrión originando una mayor pérdida de desarrollo.

Las Gráficas 15, 16 y 17 representan la media aritmética del estadio obtenido en horas, pérdida de desarrollo y longitud vértex-cóccix respectivamente, para cada tipo de intervención. Observamos que para las técnicas  $D_3$  e  $I_2$ , los parámetros de desarrollo son los más próximos al grupo control. Con anterioridad hemos analizado la supervivencia elevada que ofrecen estas técnicas. Como contraposición, son también las que producen mayor índice de malformaciones cardíacas y extracardíacas.

**ESTUDIO MORFOLOGICO**

**ESTUDIO MORFOLOGICO**

A continuación, vamos a discutir la aparición de las diferentes malformaciones cardíacas y extracardiacas que hemos obtenido en nuestros embriones tras la supresión de la circulación a través de la vena vitelina. Ya BREMER, en sus trabajos de 1929 y 1931/1932, describe dos corrientes sanguíneas que entran en el corazón del embrión de pollo a las 48 horas de incubación cuando aún no se han iniciado los procesos de septación cardíaca. Estas corrientes proceden de las venas vitelinas derecha e izquierda y desarrollan espirales de forma que entre estas dos corrientes se desarrollan los cojinetes endocárdicos y los tabiques interventricular y bulbar.

Posteriormente ROMANOFF (1960) afirma que la circulación en el corazón del embrión de pollo comienza a las 40 horas de incubación y las venas vitelinas se fusionan en el hígado durante el tercer día. El vaso resultante unido al conducto de Cuvier derecho forman una gran corriente sanguínea derecha, mientras que la izquierda sólo está compuesta por el conducto de Cuvier izquierdo. Hemos podido comprobar la enorme influencia del desarrollo mayor de la corriente sanguínea derecha a lo largo del tercer día de incubación al analizar

supervivencia, parámetros de desarrollo, malformaciones, etc en páginas anteriores.

Uno de los autores más preocupados por el estudio del trayecto de las corrientes sanguíneas en el interior del corazón durante las primeras etapas del desarrollo ha sido JAFFEE. En sus trabajos de 1963 y 1965 describe dos corrientes sanguíneas: derecha e izquierda que atraviesan el corazón embrionario en el tercer día de desarrollo. La corriente derecha fluye paralela al eje longitudinal del embrión desde el seno venoso para situarse ventralmente en la aurícula y, posteriormente, en el lado derecho del canal atrio-ventricular y del bulbus. La corriente izquierda describe una espiral sobre la derecha a nivel del seno venoso, donde entra formando un ángulo casi recto con respecto a la derecha. Se dispone primero dorsal y después ventral y a la izquierda dentro de la aurícula izquierda, donde describe un amplio arco hacia la izquierda dirigiéndose caudalmente hacia el canal atrio-ventricular. En la porción izquierda del ventrículo, la corriente izquierda se dirige hacia arriba, más a la derecha conforme más cranealmente se considere.

En una etapa posterior del desarrollo -sexto día de incubación- JAFFEE (1965) observa dos corrientes separadas en los ventrículos, coincidiendo con el momento en que se completa el septum ventricular. La septación en el bulbus finaliza en el séptimo día de incubación.

JAFFEE (1966) piensa que la septación cardíaca, máxima entre el tercer y séptimo días de incubación, requiere la



presencia de dos corrientes independientes. Dicha independencia queda determinada por una mínima velocidad de flujo. El desarrollo de las válvulas y tabiques cardíacos se produce a partir de tejidos altamente plásticos gracias a la presencia de la "gelatina cardíaca". Una discrepancia de presiones entre las corrientes sanguíneas podría ser la base hemodinámica para el desarrollo de defectos septales ventriculares.

En una publicación posterior (1967), JAFFEE cree que durante el tercer día de desarrollo embrionario, la corriente izquierda sale del bulbus introduciéndose en los arcos aórticos segundo y tercero. La corriente derecha sale en el bulbus en una situación posterior, introduciéndose en los arcos aórticos tercero y cuarto.

El cambio posterior en la ruta del tracto de salida bulbar es un factor que colabora a la vascularización del sexto arco al comienzo del cuarto día de desarrollo (JAFFEE, 1965). Un aumento de volumen sanguíneo dirigido a la corriente derecha en el cuarto día parece contribuir además al desarrollo del sexto arco.

El desarrollo del septum aorto-pulmonar se aprecia en el cuarto día de desarrollo (JAFFEE, 1967). Las corrientes sanguíneas fluyen en los arcos aórticos, de forma que la corriente izquierda se introduce en el cuarto arco y la derecha en el sexto. El tercer arco pasa a ser rama del cuarto debido probablemente al modelado del tracto bulbar en su totalidad.

En 1978, JAFFEE afirma que la septación, tamaño de las cámaras cardíacas y posición de las grandes arterias son

fenómenos morfológicos afectados por el flujo sanguíneo, de tal forma que las anomalías de dicho flujo determinan la aparición de malformaciones cardíacas. En otro trabajo de 1979, el autor piensa que cambios reversibles en el equilibrio hemodinámico producen malformaciones cardiovasculares definitivas debidas al efecto de la hipoxia.

ORTS-LLORCA y RUANO GIL (1967) y MANASEK y MONROE (1972) piensan que los factores hemodinámicos son responsables de la reestructuración del endocardio y de la gelatina cardíaca para originar los procesos de septación cardíaca.

Por otro lado, YOSHIDA Y COL (1983) practican microangiografía con azul de metileno en la vena vitelina de 156 embriones de pollo de estadios comprendidos entre el 14 y 22 de H-H. Describen dos corrientes sanguíneas que atraviesan el corazón embrionario: A y B, cuyos trayectos hemos analizado en la Introducción. Estos autores no comparten las teorías de BREMER y JAFFEE y piensan que el proceso de septación inicial es intrínseco o programado. De forma secundaria, el flujo sanguíneo puede alterar dicho proceso de septación.

PEXIEDER (1969) mide la presión sanguínea en el tercer y cuarto arcos aórticos, mediante un micromanómetro, empleando embriones de pollo de tres y seis días de incubación. La presión sanguínea es un factor determinante en la influencia morfogénica de las corrientes sanguíneas laminares.

CLARK y HU (1982) y CLARK (1984) analizan los aspectos funcionales del desarrollo cardíaco en el embrión de pollo. CLARK piensa que no están claros los mecanismos por los que el

flujo sanguíneo intracardiaco influye sobre la septación cardíaca y crecimiento de las distintas cámaras. Es fundamental la intervención de la gelatina cardíaca que puede deformarse por las corrientes sanguíneas al igual que otra sustancia plástica. Por otro lado, la localización e intensidad de los fenómenos de muerte y proliferación celulares pueden modularse por las fuerzas hemodinámicas.

En otra publicación de 1984, CLARK mide el flujo sanguíneo a través de la aorta dorsal y comprueba que permanece constante cuando se corrige para el peso embrionario. Esto sugiere que debe existir un factor de control metabólico para el gasto cardíaco más que un simple aumento en el volumen sanguíneo circulante.

CLARK Y COL (1986) analizan la función y morfología ventriculares en el embrión de pollo entre los estadios 18 y 29 de H-H. Piensan que los cambios morfológicos que acontecen, según avanza el desarrollo, son paralelos al incremento de función hemodinámica. Por consiguiente, la organización final del miocardio se encuentra en parte determinada por las fuerzas hemodinámicas que interactúan con las paredes ventriculares en desarrollo.

Estos autores determinan, en cada estadio, la presión ventricular sistólica que fue siempre mayor que la observada en la arteria vitelina. Los arcos aórticos y la aorta dorsal son los canales vasculares entre estos dos puntos de la circulación. Los arcos aórticos son seleccionados por distribución vectorial del flujo sanguíneo a través del propio

arco aórtico. Esta diferencia de presión proveería la energía necesaria para la orientación del flujo sanguíneo vectorial.

Para RUCKMAN Y COL (1985) y RUCKMAN (1986), que estudian los efectos hemodinámicos sobre la morfogénesis cardíaca, los factores hemodinámicos son fundamentales en la comprensión del desarrollo cardíaco normal y en la génesis de las malformaciones cardíacas.

Con la finalidad de no aumentar la confusión existente en cuanto a terminología en determinadas partes del corazón embrionario, vamos a definir el significado que le hemos dado a determinados términos. El truncus arteriosus es la parte que se extiende distalmente a partir de la implantación de las válvulas sigmoideas. El bulbus cordis es la zona que se extiende en dirección proximal a partir de las válvulas sigmoideas. Comprende las siguientes estructuras: infundíbulos aórtico y pulmonar y porción trabeculada del ventrículo derecho. La cámara de entrada al ventrículo derecho deriva del ventrículo primitivo (PEXIEDER, 1978; ORTS-LLORCA Y COL, 1980, 1981 y 1982).

Tras repasar los trabajos más importantes que analizan la influencia del factor hemodinámico en la embriogénesis cardíaca, pasamos a relacionar estos resultados y los procedentes de las intervenciones realizadas a distintos niveles por otros autores con los que hemos conseguido nosotros suprimiendo la circulación a través de la vena vitelina en nuestros embriones.

#### MALEFORMACIONES AURICULARES

Si consideramos las malformaciones auriculares, el primer dato que nos llama la atención es su escasa frecuencia: 1,21% de todas las malformaciones obtenidas tomadas individualmente y 0, 63% sobre el total de embriones fijados.

Para BREMER (1929, 1931/1932) parece escasa la influencia del factor hemodinámico sobre el desarrollo auricular. Por el contrario, JAFFEE (1963) describe el desarrollo del septum interatrial en corazones de rana moldeado por la influencia de las corrientes sanguíneas.

Nuestras malformaciones auriculares se obtuvieron tras ser intervenidos los embriones en el estadio 17-18 de H-H mediante cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos en todos los casos.

El embrión LV-408 (láminas 1 y 2) muestra la pared de la aurícula izquierda con un enorme grosor si la comparamos con la derecha. Al mismo tiempo, la luz queda muy reducida (lámina 1: figura 4; lámina 2: figuras 1 a 6). El septum interatrial queda plegado sobre sí mismo (lámina 2: figuras 1 a 6) dando paso, por debajo de su porción inferior y hacia el ventrículo derecho, a la sangre que procede de la aurícula izquierda y encuentra un obstáculo para llegar al ventrículo izquierdo por el orificio aurículo-ventricular izquierdo que presenta unas dimensiones extraordinariamente reducidas (lámina 2: figuras 2, 3 y 4). En

este embrión se produce una fusión muy precoz de los cojinetes atrio-ventriculares (lámina 2: figuras 2 y 3).

RYCHTER Y LEMEZ (1958,1960) obtienen estenosis o atresia del orificio atrio-ventricular correspondiente introduciendo microclips a nivel de la aurícula derecha o izquierda. Para estos autores, la estenosis o atresia mitral puede estar causada por hipoplasia atrial, de forma que la acción hemodinámica de la aurícula condiciona la fusión de los cojinetes atrio-ventriculares.

En 1962, RYCHTER obtiene estenosis del orificio atrio-ventricular derecho colocando un clip de plata para suprimir la circulación del cuarto o sexto arco aórtico al tercer día de incubación.

Dentro de los autores que actúan sobre el polo venoso cardíaco, STEPHAN (1955) estudia las consecuencias de la supresión de la vena vitelina derecha en embriones de pollo de 27 a 32 horas de incubación. Obtiene mayor desarrollo de la aurícula izquierda con respecto a embriones controles. En un embrión del quinto día de incubación, la aurícula derecha está considerablemente disminuida de tamaño y el septum interatrial se desarrolla normalmente en su cuerno ventral que alcanza el canal atrio-ventricular pero no así en su porción dorsal.

CLARK (1969) comprime el conducto de Cuvier con microclips de alambre en cada lado entre los estadios 20 y 24 de H-H observando disminución en el tamaño de la aurícula derecha. Por el contrario, no obtiene resultados valorables cuando practica la reducción uni o bilateral en embriones de estadios

superiores al 24 de H-H y cree que, después del estadio 24, las corrientes espirales tienen poco o ningún efecto sobre el desarrollo normal del corazón. Para CLARK, no tiene tanto valor la influencia del volumen o presión de las corrientes sanguíneas separadamente sino el equilibrio de estos factores como determinante del desarrollo cardíaco normal.

Otros autores han obtenido también malformaciones a nivel auricular ligando la vena vitelina derecha -en este caso- en embriones de pollo de estadios 18 a 24 de H-H con hilo de diez ceros (ROHR Y VAUPEL, 1973). Observan disminución en el desarrollo de la aurícula derecha y perforaciones anormales del septum interatrial.

HARR Y COLL (1973) introducen hilo de nylon de 90 $\mu$  de grosor en la región del canal atrio-ventricular izquierdo en embriones de estadios 23 a 25 de H-H. Obtienen hipoplasia de la aurícula izquierda y atresia valvular mitral. Para estos autores, sus hallazgos enfatizan el probable papel morfogénico de las corrientes sanguíneas. De esta forma, las alteraciones hemodinámicas en el lugar del primordio de la válvula mitral pueden inducir malformaciones que simulan los hallazgos clínicos del síndrome de corazón izquierdo hipoplásico.

Mediante la introducción de factores físicos y químicos pueden obtenerse malformaciones a nivel auricular. GILANI Y JAFFEE (1971) estudiando el efecto de la radiación X e hipotermia consiguen defectos septales auriculares y, de forma análoga, GILANI Y SILVESTRI (1977) mediante la administración

de propanolol obtienen defectos septales auriculares e hipoplasia de la pared auricular. Para estos autores, el propanolol, mediante su efecto bradicardizante, provocaría anomalías en los patrones de flujo sanguíneo y, por tanto, la producción de malformaciones cardíacas.

En la literatura revisada en relación con el análisis de la influencia del factor hemodinámico en la cardiogénesis, no hemos encontrado casos descritos de desembocadura anómala de la vena pulmonar en la aurícula derecha como puede observarse en el embrión LV-489 (lámina 23).

Como ya hemos comentado anteriormente, la frecuencia de malformaciones a nivel auricular tras la supresión del aporte vitelino en nuestra casuística es escasa pero hemos tenido la oportunidad de revisar resultados positivos por parte de otros autores al actuar de forma semejante a nosotros.

Está ampliamente reconocido por todos los autores que el desarrollo del septum interatrial es independiente de las corrientes sanguíneas y se produce por expansión dorsal de las aurículas (PUERTA, 1976). Secundariamente, su disposición si puede verse alterada por la influencia hemodinámica y aparecer desplazado o plegado como sucede en nuestro embrión LV-408.

El embrión LV-408, al que hemos hecho referencia anteriormente, sufrió la cauterización de los vasos vitelinos derechos a lo largo del tercer día de desarrollo. Siguiendo los trabajos de JAFFEE (1963,1965) sobre el trayecto de las corrientes sanguíneas en el interior del corazón en desarrollo, se produciría -en nuestro caso- una alteración de



la espiralidad que desarrolla la corriente izquierda sobre la derecha a nivel de la aurícula en condiciones normales. De esta forma, el desarrollo de la pared y cavidad auriculares así como del orificio aurículo-ventricular en el lado izquierdo resultan anómalos, si bien no podemos considerarlo como malformación auricular pura puesto que juega un papel importante la fusión precoz de los cojinetes atrio-ventriculares que se observa en este embrión.

#### MALFORMACIONES DEL CANAL ATRIO-VENTRICULAR

Las malformaciones del canal atrio-ventricular ocupan el segundo lugar de frecuencia en nuestra serie después de las bulbares: 12,11% considerando las malformaciones individualmente y 6,30% de todos los embriones estudiados. Dentro de este grupo, el retraso en el proceso de fusión de los cojinetes atrio-ventriculares constituye el hallazgo más frecuente.

El número de casos que hemos obtenido con diferentes malformaciones a nivel del canal atrio-ventricular es equiparable si consideramos conjuntamente las técnicas empleadas en los lados derecho e izquierdo y mucho más frecuentes tras las intervenciones  $D_2$  e  $I_2$  como sucede con el resto de malformaciones, fenómeno éste que ya hemos analizado con anterioridad.

Dentro de las malformaciones a este nivel, la alteración

en el proceso de fusión de los cojinetes atrio-ventriculares, bien de forma aislada o formando parte de malformaciones más complejas, es el hallazgo más frecuente. Aparece en mayor número tras la supresión del aporte vitelino en el lado izquierdo. También su aparición es más precoz cuando se interviene en el lado izquierdo (estadio de intervención 12-13 de H-H) que cuando se suprime el aporte vitelino derecho (estadio de intervención 15-16 de H-H).

Aunque hemos podido apreciar la fusión precoz de los cojinetes atrio-ventriculares en el embrión que nos ha estado ocupando anteriormente, la alteración más frecuentemente obtenida en la cronología de la fusión de estas estructuras es su retraso, de forma que no se encuentran unidos en el estadio 28 de H-H como sucede en los embriones controles (HAY Y LOW, 1972; LDS Y VAN EIJNTHOVEN, 1973) (Láminas A, 3, 4 y 5).

En otras ocasiones, hemos podido comprobar falta de unión entre el septum primum y los cojinetes atrio-ventriculares, así como persistencia de la comunicación entre aurícula derecha y ventrículo izquierdo (LV-575; lámina 6), comunicación que no hemos podido observar en embriones de pollo controles en ningún momento del desarrollo. Esta comunicación se objetiva normalmente en embriones humanos del estadio 20 (21 mms y más) constituyendo la tercera raíz del infundíbulo aórtico en los estadios anteriores al cierre de la comunicación interventricular (ORTS-LLORCA Y COL, 1981).

Junto a las anomalías anteriores, hemos apreciado una disposición anormal de los cojinetes atrio-ventriculares en

algunos embriones, sobre todo en relación con el cojinete inferior. En la Lámina A (figuras 3, 4 y 6) puede observarse la disposición normal del cojinete atrio-ventricular inferior contactando con la parte derecha del vértice del septum ventricular. Por el contrario, el embrión LV-49D (lámina 4: figuras 5 y 6) muestra un cojinete inferior que se sitúa sobre el lado izquierdo del septum ventricular. Otro de los embriones estudiados, LV-56 (Lámina 25: figuras 4 y 5) presenta un cojinete inferior dispuesto sobre el vértice del septum ventricular adquiriendo una disposición anómala.

Nos parece que sobre las distintas malformaciones a nivel atrio-ventricular juega un importante papel la influencia del factor hemodinámico. Los cojinetes atrio-ventriculares, como después veremos con los rodetes bulbares, son estructuras altamente plásticas que permiten deformaciones cuando se produce un desequilibrio hemodinámico en el interior del corazón embrionario. Esta hipótesis viene siendo mantenida desde hace muchos años por diferentes investigadores: BREMER (1929, 1931/1932); JAFFEE (1963, 1965, 1966, 1978, 1979); ORTS-LLORCA Y RUANO GIL (1967); MANASEK Y MONROE (1972).

Al interrumpir la circulación vitelina en uno de los lados modificamos la corriente que va a atravesar la zona del canal atrio-ventricular y los cojinetes responden a esta discrepancia de presiones modificando su proceso normal de fusión entre sí o con el septum primum para favorecer el aflujo de sangre a los ventrículos. Dicha modificación del patrón hemodinámico, y como consecuencia, la alteración en la fusión de los cojinetes puede

determinar la comunicación entre aurícula derecha y ventrículo izquierdo o la disposición anómala del cojinete atrio-ventricular inferior como hemos podido examinar en los embriones citados.

La diferencia de volumen entre las corrientes sanguíneas derecha e izquierda a lo largo del tercer día de desarrollo puede ser el factor condicionante de las diferentes malformaciones a nivel de la región atrio-ventricular. El menor aflujo sanguíneo en el lado izquierdo determina, tras su supresión, alteraciones en la cronología de la fusión de los cojinetes o pequeñas modificaciones en ellos. Por el contrario, la supresión del mayor volumen a través de la corriente derecha altera la disposición de entrada a la aurícula y al canal atrio-ventricular dando lugar a la disposición anómala de los cojinetes atrio-ventriculares y aparición de la comunicación entre aurícula derecha y ventrículo izquierdo.

Otros autores han conseguido malformaciones superponibles a nivel atrio-ventricular. STEPHAN (1955) tras suprimir la vena vitelina derecha obtiene anomalías del canal atrio-ventricular que no describe.

ORTS-LLORCA Y COL (1959) tras ligar la vena vitelina izquierda en el estadio 16 de H-H obtiene cojinetes atrio-ventriculares sin fusionar.

JAFFEE (1965) cauteriza el área lateral embrionaria en embriones de 36 horas de incubación y, tras cuatro a seis días de reincubación, obtiene cojinetes atrio-ventriculares

anómalos.

#### MALFORMACIONES VENTRICULARES

Las malformaciones ventriculares referidas, sobre todo, a la trabeculización ventricular escasa y anómala constituyen uno de los hallazgos más frecuentes: 11,51% de todas las malformaciones obtenidas, y 5,99% sobre el total de embriones fijados.

Las alteraciones ventriculares que hemos encontrado aparecen más precozmente, con respecto al estadio de intervención, en los casos en que se ha suprimido la circulación vitelina izquierda (a partir del estadio de intervención 11-12 de H-H) mientras que surgen más tardíamente cuando se ha intervenido sobre el lado derecho (a partir del estadio de intervención 15-16 de H-H).

El primer grupo de malformaciones ventriculares lo hemos denominado ausencia del septum ventricular. En realidad no podemos afirmar que nuestros hallazgos correspondan a auténticos ventrículos, únicos como al parecer obtuvieron ORTS-LLORCA Y COL (1980) tras ligar la vena vitelina izquierda. DOR Y COL (1978) y DOR Y CORONE (1979) colocan un trocito de membrana o anillo en la unión aurículo-ventrículo-conal, cara dorsal del cono o borde derecho del cono en embriones de pollo de tres días de

incubación y obtienen también ventrículo único. En muchos casos, nosotros apreciamos en la pared miocárdica entre ambos ventrículos pequeñas estructuras que podrían corresponder al septum ventricular.

La edad de estos embriones oscila entre los estadios 21-22 y 25-26 de H-H en el momento de la fijación. En la lámina 11 (figuras 1 y 2) observamos una pequeña estructura (SI) que quizás podría corresponder con el inicio del septum ventricular; si analizamos otro embrión control de la misma edad (estadio 21-22 de H-H) podemos observar como el septum ventricular es ya una estructura bien delimitada (lámina 8: figuras 1 y 2).

En uno de los embriones más interesantes que hemos presentado, LV-498 (láminas 7 y 8), no hemos podido objetivar la aparición del septum ventricular. Fue intervenido mediante cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos alcanzando el estadio 25-26 de H-H en el momento de la fijación. Puede apreciarse una cavidad ventricular única que hemos denominado ventrículo derecho (VD) (lámina 8: figuras 1 y 5) y no observamos tabique ventricular ni cavidad ventricular izquierda de forma clara. Junto a la ausencia de septum ventricular no se observa inicio de septación bulbar (lámina 7: figuras 4, 5 y 6; lámina 8: figuras 1 y 2), presenta un canal atrio-ventricular común (lámina 8: figuras 1 a 4), septación auricular incompleta por un septum primum atípico (lámina 7: figuras 4, 5 y 6) y ectopia cordis entre porción trabeculada y no trabeculada del bulbus cordis (lámina

7:figura 3) junto a malformaciones extracardiacas. Es curioso observar cómo la septación a nivel del truncus acontece normalmente (lámina 7: figura 2) para un embrión de esta edad pero, sin embargo, la septación a nivel auricular, en el canal atrio-ventricular, a nivel de ventrículos y bulbus se vea tan profundamente alterada. Es necesario recordar que este embrión fue intervenido a lo largo del tercer día de desarrollo (estadio 16-17 de H-H) suprimiendo el mayor aporte de flujo sanguíneo que recibe el corazón en esta etapa del desarrollo, es decir, suprimiendo la vena vitelina derecha. El cambio en la distribución de los flujos sanguíneos, sobre todo cuando se suprime el más importante, conlleva variaciones de la presión sanguínea sobre determinadas áreas y puede ser éste el origen del sustrato morfológico que da lugar a la malformación.

En otro grupo de embriones, de estadios comprendidos entre el 23 y 25 de H-H, hemos observado una disposición anómala del septum ventricular (lámina 9: figuras 2 a 5; lámina 10: figuras 1 a 5) si lo comparamos con la disposición que vemos frecuentemente en los embriones controles de edades similares (lámina 8: figuras 3 y 4).

El tabique interventricular se forma como consecuencia del crecimiento hacia abajo y afuera a cada lado del asa bulboventricular (McBRIDE Y COL, 1981). En condiciones normales, el relieve cada vez mayor de esta porción del tabique interventricular (pars muscosa) va separando el esbozo de las porciones trabeculadas correspondientes a los ventrículos

derecho e izquierdo.

Con anterioridad al trabajo de **McBRIDE, HARRH Y PAUL (1975)** estudian la morfogénesis del septum ventricular en el embrión de pollo entre los estadios 22 a 33 de H-H y concluyen que el septum ventricular muscular se forma por agregación y coaptación de trabéculas, presentando un único origen de desarrollo. Para estos autores, la morfogénesis del septum resulta de un activo crecimiento hacia abajo conforme los ventrículos se expanden apicalmente.

En los embriones que hemos analizado con ausencia o dudosa formación del septum ventricular y en aquellos que presentan una disposición septal anómala, tras sufrir la supresión del aporte vitelino, se altera la expansión ventricular normal que es la determinante del desarrollo adecuado del septum ventricular muscular.

Una alteración que hemos comprobado frecuentemente en nuestros embriones intervenidos es la trabeculización ventricular escasa y anómala en unión de otros defectos. Algunos ejemplos pueden objetivarse en la lámina 11 (figuras 3 a 6). Es muy probable que el cambio en la distribución de las corrientes sanguíneas, al suprimir una de ellas, origine turbulencias del flujo en el interior de la cavidad ventricular alterando la formación de las trabéculas ventriculares, que se presentan en número muy inferior con respecto a los embriones controles (lámina B: figuras 5 y 6) y presentando una disposición atípica. La aparición de anomalías en la trabeculización ventricular aparece más



frecuentemente tras intervenir en el lado derecho.

Otros autores han objetivado anomalías en el desarrollo de cavidades y/o trabeculización ventricular actuando de diferentes formas sobre el corazón embrionario.

RYCHTER Y LENEZ (1958) obtienen hipoplasia ventricular tras eliminar la aurícula derecha o izquierda mediante microclips obteniendo estenosis o atresia del orificio atrio-ventricular correspondiente .

Igualmente, CLARK (1969) consigue hipoplasia de la cavidad ventricular derecha así como disminución de su trabeculización al comprimir el conducto de Cuvier con microclips de alambre en cada lado.

ROHR Y VAUPEL (1973) encuentran disminución en el grosor y trabeculización del miocardio del ventrículo derecho tras ligar la vena vitelina derecha en embriones de estadios comprendidos entre el 18 y 24 de H-H.

HARRH Y COL (1973) introducen un hilo de nylon de 90 $\mu$  de calibre en la región del canal atrio-ventricular izquierdo y obtienen aurícula y ventrículo izquierdos hipoplásicos.

Utilizando factores físicos como es la hipoxia, GRABOWSKI Y PAAR (1958) obtienen ventrículo izquierdo hipoplásico con salida de aorta y arteria pulmonar a partir del ventrículo derecho.

Finalmente, GILANI Y JAFFEE (1971) estudian los efectos de la radiación X e hipotermia sobre el embrión de pollo consiguiendo hipoplasia de la pared ventricular.

El cambio en los patrones de flujo en etapas fundamentales

del desarrollo cardíaco modifica la expansión ventricular que se produciría normalmente y, de esta forma, puede alterarse la propia cavidad ventricular o el desarrollo de su trabeculización y, de manera secundaria, influir en el desarrollo y/o disposición del septum ventricular muscular.

#### MALFORMACIONES BULBARES

Este grupo es el más numeroso dentro de las malformaciones cardíacas que hemos encontrado. Representa un 29,69% sobre el total de malformaciones y un 15,45% sobre el total de embriones fijados. Hemos clasificado las malformaciones a este nivel en dos grandes grupos: alteraciones en la cronología de la fusión de los rodetes bulbares y persistencia de la comunicación interventricular secundaria. Estos defectos han aparecido aisladamente o en unión de otras alteraciones a distintos niveles.

Considerando las alteraciones en la cronología de la fusión de los rodetes bulbares, observamos una aparición más precoz y numerosa de este defecto en los embriones intervenidos en el lado derecho (estadio de intervención 12-13 de H-H) (28 casos) que en el lado izquierdo (estadio de intervención 14-15 de H-H) (21 casos), como consecuencia probablemente de la mayor importancia de la corriente sanguínea derecha.

Si analizamos los embriones supervivientes tras ser intervenidos mediante las técnicas  $I_2$  y  $D_3$ , comprobamos que la alteración en la cronología de la fusión de los rodetes bulbares se presenta con una mayor frecuencia (8 casos) tras ser intervenidos en el estadio 17-18 de H-H mediante la técnica  $I_2$ . Por el contrario, la mayor frecuencia (10 casos) para la técnica  $D_3$  coincide con el estadio de intervención 18-19 de H-H. Obtenemos un resultado superponible si valoramos conjuntamente las técnicas  $I_2$ ,  $I_3$  e  $I_4$  por un lado y  $D_2$ ,  $D_3$  y  $D_4$  por otro lado, es decir, las diferentes técnicas aplicadas al lado izquierdo (I) o derecho (D) en embriones a partir del estadio 15 de H-H en el momento de la intervención. El mayor volumen de la corriente derecha a lo largo del tercer día de desarrollo, que equivale al estadio 18 de H-H, podría justificar la demora en la aparición de esta malformación en  $D_3$  con respecto a  $I_2$ . El mayor número de complicaciones surgidas en los embriones que fueron intervenidos mediante  $I_2$  con respecto a  $D_3$  podría ser otro factor que nos explica la aparición masiva de esta malformación más precozmente en  $I_2$  que en  $D_3$ .

Las alteraciones en la cronología de la fusión de los rodetes bulbares se refieren al retraso en el proceso de fusión de estas estructuras. El defecto lo hemos podido objetivar a diferentes niveles: comunicando los infundíbulos aórtico y pulmonar (lámina 12: figuras 1 y 2) y, en cortes más caudales, comunicando el infundíbulo aórtico con el ventrículo derecho (lámina 12: figura 3). En ocasiones, el cierre de este defecto,

en secciones más inferiores, acontece normalmente o adquiere una forma anómala como sucede con el embrión que nos ocupa (LV-411; estadio de fijación 30 de H-H) en el que puede observarse la fusión del cojinete inferior con el vértice del septum ventricular, hecho que no presenta esta disposición en embriones normales (lámina 12: figuras 4 y 5).

Otras veces hemos apreciado una pequeña comunicación en el bulbus entre los infundibulos aórtico y pulmonar (lámina 13: figuras 2, 4 y 5) y, sin embargo, el ventrículo derecho queda comunicado ampliamente con el infundíbulo aórtico en cortes inferiores (lámina 13: figura 6; lámina 14: figuras 1, 3 y 4) (estadios de fijación 29-30 de H-H). Por el contrario, en la lámina C exponemos algunos ejemplos de fusión de rodetes bulbares en embriones normales de estadios de fijación comprendidos entre el 29 y 31-32 de H-H (figuras 1 a 6).

En otras ocasiones, hemos observado cómo el defecto en la fusión de los rodetes bulbares se acompaña, una vez que se fusionan dichas estructuras, de disposición anómala de uno de los infundibulos. Este es el caso del infundíbulo pulmonar en el embrión LV-601 (estadio de fijación 30-31 de H-H) (lámina 15: figuras 6 y 7).

En la lámina 18 podemos analizar otros dos ejemplos de la participación del cojinete inferior en los casos de defecto de fusión de los rodetes bulbares. En la figura 3 se produce el cierre de la comunicación entre infundíbulo aórtico y ventrículo derecho, mediante la disposición anómala del cojinete inferior sobre el vértice del septum ventricular

(LV-424; estadio de fijación 31 de H-H). En las figuras 4 a 6 que corresponden al embrión LV-86, fijado en un estadio 34 de H-H, se observa la comunicación existente entre el infundíbulo aórtico y el ventrículo derecho debida al retraso en el proceso de fusión de los rodetes bulbares entre sí y del cojinete inferior con el rodete septal.

El retraso en el proceso de fusión de los rodetes bulbares ha sido objetivado también en embriones de edades superiores: estadios de fijación comprendidos entre el 33 y 36 de H-H (láminas 18 a 22). En ocasiones, la comunicación entre los infundibulos aórtico y pulmonar tiene lugar desde la implantación de las válvulas sigmoideas, con anomalías de las estructuras valvulares como se aprecia en la lámina 21 (figuras 1 y 2) con deformación y dilatación de la sigmoidea pulmonar. Otras veces, como ya hemos mencionado más arriba al comentar otro embrión, es la disposición de los infundibulos la que sufre deformaciones como puede observarse en el infundíbulo aórtico del embrión LV-502 (lámina 22: figuras 1 a 4) debido al relieve que hace en su luz y borde derecho la cresta conal anterior y, posteriormente, por presentar una prolongación anterior que se debe a la falta de fusión de los rodetes bulbares (figuras 5 y 6). En la lámina D podemos apreciar ejemplos de septación bulbar normal en embriones controles fijados entre los estadios 32 y 34 de H-H.

Al igual que vimos con las alteraciones de fusión de los cojinetes atrio-ventriculares, que podían acompañarse de disposición anómala de estas estructuras, en el caso de los

rodetes bulbares también hemos observado cómo se detiene el desarrollo de uno de ellos: es el caso del embrión LV-56, fijado en un estadio 31-32 de H-H, que muestra una significativa hipoplasia del rodete parietal (lámina 24: figuras 5 y 6). En este caso, el cojinete inferior también adquiere una disposición anómala que ya ha sido comentada (lámina 25: figuras 4, 5 y 6). En el embrión LV-59 (lámina 43; estadio de fijación 31-32 de H-H) puede observarse una hipoplasia del rodete bulbar septal (figura 6). En las figuras 2 y 3 se aprecia la comunicación interinfundibular que, posteriormente, persiste entre ventrículo derecho e infundíbulo aórtico (figuras 4, 5 y 6).

En las láminas 26 (LV-294; estadio de fijación 30-31 de H-H) y 27-28 (LV-477; estadio de fijación 35 de H-H) pueden observarse importantes comunicaciones interinfundibulares (lámina 26: figuras 2 y 3; lámina 28: figuras 1 y 2) que no se presentan aisladas. En el primer caso, puede observarse persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo (lámina 26: figura 1) y trabeculización ventricular anómala (lámina 26: figuras 1 a 6). En el segundo caso, el cuarto arco aórtico derecho alcanza un desarrollo escaso (lámina 27: figuras 1 a 6) mientras aparece hipertrofiado el sexto arco (lámina 27: figuras 3 a 6); puede observarse también ectopia cordis (lámina 27: figura 5) y celosomía (lámina 27: figuras 5 y 6).

Con respecto al segundo grupo de defectos a nivel bulbar, es decir, la persistencia de comunicación interventricular secundaria, su frecuencia es significativamente menor que las

alteraciones en el proceso de fusión de los rodetes bulbares: 7,27% con respecto a todas las malformaciones y 3,78% con respecto a los embriones fijados. Al igual que hemos visto con el defecto de fusión de los rodetes bulbares, la persistencia de comunicación interventricular secundaria aparece más precoz y frecuentemente cuando se interviene en el lado derecho (estadio de fijación 12-13 de H-H) (9 casos) que cuando se suprime el aporte vitelino en el lado izquierdo (estadio de fijación 14-15 de H-H) (3 casos).

Si consideramos las técnicas que han producido mayor número de malformaciones cardíacas y extracardiacas, observamos que la persistencia de comunicación interventricular secundaria aparece con un mayor índice de frecuencia cuando se practica la cauterización y sección de los vasos vitelinos derechos ( $D_2$ ) (7 casos) que cuando se suprime la circulación vitelina izquierda mediante presión y posterior tracción ( $I_2$ ) (3 casos). Al igual que analizamos con el defecto de fusión de los rodetes bulbares, en este caso, el mayor aporte sanguíneo a través de la corriente derecha en el tercer día de desarrollo embrionario puede justificar los resultados que hemos enunciado anteriormente.

La persistencia de la comunicación interventricular secundaria se ha presentado en algunos embriones de forma aislada y, otras veces, en asociación con retraso en la fusión de los rodetes bulbares. Un ejemplo de este segundo grupo queda reflejado en la lámina 29 (LV-382; estadio de fijación 29 de H-H). En las imágenes 3, 4 y 5 se aprecia la persistencia de

una gran comunicación interventricular ( $196\mu$  de calibre). En los embriones controles de estadios 27 a 29 de H-H la comunicación interventricular secundaria mide habitualmente  $35-40\mu$  de calibre (Ver lámina E con embriones controles de estadios comprendidos entre el 30 y 32 de H-H).

El embrión LV-70 puede analizarse en las láminas 31 a 33 (cortes histológicos) y 34 a 36 (reconstrucción del corazón por el método de BORN). Este embrión se fijó en el estadio 30-31 de H-H tras sufrir ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 17 de H-H. Podemos observar un defecto en la fusión de los rodetes bulbares que determina una comunicación entre el infundíbulo aórtico y el ventrículo derecho (lámina 33: figuras 1 a 4) con desplazamiento de la cresta conal anterior hacia la derecha (lámina 33: figuras 2 y 3). Entre la cresta conal anterior y el rodete septal se insinúa una fisura desde el infundíbulo aórtico hacia el vestigio de infundíbulo pulmonar (lámina 33: figuras 2 y 3). En la figura 5 de la lámina 33 se evidencia la persistencia de una comunicación interventricular secundaria grande para la edad del embrión (lámina 36: figuras 1, 2 y 3).

En este embrión se objetiva una ausencia total de la porción ventral del sexto arco aórtico (lámina 31: figuras 1 a 6) con un infundíbulo pulmonar atrófico, que presenta un coágulo sanguíneo en su luz y en su porción proximal no conecta con el ventrículo derecho (lámina 32: figuras 1 a 6; lámina 35: figuras 1 a 4). Las arterias pulmonares proceden



del cuarto arco aórtico posiblemente por persistencia de las conexiones entre las porciones dorsales del cuarto, quinto y sexto arcos aórticos (lámina 31: figuras 2 a 5; lámina 34: figuras 2 y 3). Estas arterias pulmonares se ven descender e introducirse en el parénquima pulmonar (lámina 32: figuras 1 y 3; lámina 33: figuras 1, 4 y 5). Se aprecia un buen desarrollo del cuarto arco aórtico derecho mientras que el izquierdo se encuentra en vías de atrofia (lámina 31: figuras 2 a 6; lámina 34: figuras 4 y 5). El tronco de la arteria pulmonar es de diámetro casi normal y termina en fondo de saco, sin que pueda visualizarse la válvula sigmoidea pulmonar. Es posible que el infundíbulo pulmonar reciba sangre a través de una pequeña fisura, que mencionábamos anteriormente, entre el rodete septal y la cresta conal anterior (lámina 32: figura 1 a 6; lámina 33: figuras 1, 2 y 3; lámina 34: figuras 4 y 5).

Los hallazgos observados en este embrión nos plantean dos aspectos:

1.- Existe desarrollo del tronco de la arteria pulmonar lo que implica que en el truncus ha habido división en aorta y arteria pulmonar, siendo esta arteria pulmonar prácticamente normal. No hay evidencia de formación de válvulas sigmoideas pulmonares; por el contrario, la aorta ascendente presenta mayor diámetro que en condiciones normales.

2.- Las arterias pulmonares parecen surgir del plexo que une el cuarto arco con el quinto y sexto arcos durante las fases iniciales del desarrollo de las porciones dorsales de los mismos.

Es posible que la ligadura de la vena vitelina izquierda haya determinado, primariamente, una alteración del flujo en el bulbus de tal forma que se haya producido una desviación del flujo de la corriente derecha de su porción media en el bulbus hacia una posición dorsal, ocupando el lugar que hubiera correspondido al flujo izquierdo; de esta forma, no se produce un desarrollo normal de la porción proximal y anterior del bulbus no trabeculado provocando la ausencia de la porción infundibular del tronco de la arteria pulmonar. La alteración del flujo no ha influido sobre el truncus arteriosus, cuyo proceso de tabicación es independiente del que se produce en el bulbus, por lo que se ha desarrollado la aorta y la arteria pulmonar. Esta última presenta sangre en su interior debido a que, durante algunas fases del desarrollo, la aorta y el tronco de la arteria pulmonar presentan una comunicación en sus porciones más proximales, comunicación que desaparece con el desarrollo del septum aorto-pulmonar (Estadio 27 de H-H) (SISMAN, 1970).

La persistencia de comunicación interventricular secundaria más severa que hemos podido observar corresponde al embrión LV-550 (lámina 37), fijado en un estadio 35-36 de H-H tras sufrir la sección del área vascular derecha en el estadio 12-13 de H-H. La comunicación mide 368 $\mu$ . Este embrión presenta, además, un retraso en la fusión de los rodetes bulbares por lo que existe una enorme comunicación entre el infundíbulo aórtico y el ventrículo derecho (figuras 2 y 3). Como podemos observar en las figuras 2, 3 y 4 la cavidad ventricular derecha parece

desplazar la cavidad ventricular izquierda y el septum ventricular hacia arriba y a la derecha de las imágenes, asemejándose a los corazones con doble salida del ventrículo derecho.

Ya en sus trabajos de 1929 y 1931/1932, BREMER piensa que la septación bulbar se produce entre dos corrientes que proceden de las venas vitelinas derecha e izquierda en el corazón embrionario de pollo a las 48 horas de incubación.

A lo largo del sexto día de incubación, JAFFEE (1965) observa dos corrientes separadas en los ventrículos, coincidiendo con el momento en que se completa el septum ventricular. La septación en el bulbus finaliza en el séptimo día de incubación.

JAFFEE (1966) cree que la septación cardíaca requiere la presencia de dos corrientes independientes. Dicha independencia queda determinada por una mínima velocidad del flujo. El desarrollo de las válvulas y tabiques cardíacos se produce a partir de tejidos altamente plásticos gracias a la presencia de la "gelatina cardíaca". Una discrepancia de presiones entre las corrientes sanguíneas podría ser la base hemodinámica para el desarrollo de defectos septales ventriculares.

PEXIEDER (1969) piensa también que la presión sanguínea es un determinante en la influencia morfogénica de las corrientes sanguíneas laminares.

CLARK Y HU (1982) y CLARK (1984), al analizar los aspectos funcionales del desarrollo cardíaco en el embrión de pollo, creen que es fundamental la intervención de la gelatina

cardíaca que puede deformarse por las corrientes sanguíneas al igual que otra sustancia plástica. Por otro lado, ellos piensan también que la localización e intensidad de los fenómenos de muerte y proliferación celulares pueden modularse por las fuerzas hemodinámicas.

Estamos de acuerdo con los autores que hemos citado en que, a nivel bulbar, nos parece fundamental la influencia de las corrientes sanguíneas ya que, al ser modificadas, se produce un cambio en la presión que determina alteraciones en el desarrollo y fusión de los rodetes bulbares dando lugar a malformaciones como hemos tenido oportunidad de comprobar.

Otros investigadores, actuando a diferentes niveles y de formas distintas, han conseguido obtener malformaciones a nivel bulbar.

MANHOFF Y JOHNSON (1951) realizando electrocoagulación del sexto arco aórtico derecho en embriones de pollo de tres días de edad, obtienen: doble arco aórtico y defecto septal ventricular junto a otras malformaciones que comentaremos más adelante.

RYCHTER Y LEMEZ (1957, 1958) obtienen defectos septales interventriculares por estenosis de la salida ventricular izquierda o derecha, mediante la eliminación de los arcos aórticos tercero, cuarto y sexto derecho e izquierdo en embriones de cuatro días de incubación. Obtienen también malformaciones de las válvulas semilunares.

RYCHTER Y LEMEZ (1958) eliminan la aurícula derecha o izquierda mediante microclips y observan estenosis de la

arteria en el lado correspondiente y defecto septal interventricular.

**RYCHTER (1962)** coloca un clip de plata suprimiendo la circulación del cuarto o sexto arcos aórticos al tercer o cuarto días de incubación y obtiene transposición de aorta al ventrículo derecho tras 48 horas de reincubación. Observa también un rodete anormal en la futura porción aórtica del bulbus cardíaco.

**GESSNER (1966,1978)** y **GESSNER Y VAN MIEROP (1970)** introducen un gancho de Stephan en la región troncoconal cardíaca en embriones de pollo de los estadios 19 y 20 de H-H. Junto a malformaciones del sistema arterial que mencionaremos más adelante, obtienen ensanchamiento del tracto de salida del ventrículo izquierdo con y sin defecto septal ventricular, posición anormal de la aorta, origen de ambos vasos a partir del ventrículo derecho anatómico y doble entrada al ventrículo izquierdo.

**CLARK Y ROSENQUIST (1978)** y **CLARK Y COL (1984)** introducen un hilo de sutura de diez ceros en embriones de pollo del estadio 21 de H-H a través de la curva más interna del asa cardíaca cerrando el cono-truncus a un diámetro de 0,4 mms. Tras reincubar hasta los estadios 36 y 43 de H-H obtienen defectos septales ventriculares.

**ARTEAGA Y COL (1982)** obtienen doble salida del ventrículo derecho en el embrión de pollo impidiendo la incorporación del cono pósteromedial al ventrículo izquierdo mediante una ligadura alrededor del extremo caudal del cono.

COLVE Y HURLE (1983) introducen un alambre de tungsteno de 20µm de diámetro debajo de la porción tronco-conal cardíaca en embriones de 3,5 días. Posteriormente sacrifican 106 embriones en los días 7, 10, 15 y 17. Los embriones supervivientes mostraron en un 50-60% de los casos alteraciones en la incorporación del conus cordis al ventrículo izquierdo. Clasifican las anomalías cardíacas en cuatro grupos:

Grupo I. Ensanchamiento del tracto de salida del ventrículo izquierdo igual que GESSNER (1966).

Grupo II. Ensanchamiento del tracto de salida del ventrículo izquierdo con defecto septal ventricular.

Grupo III. Doble salida del ventrículo derecho y defecto septal ventricular.

Grupo IV. Doble entrada al ventrículo izquierdo, doble salida del ventrículo derecho y defecto septal ventricular.

Junto a las anomalías cardíacas, observan malformaciones de las válvulas semilunares, tanto de su forma como de su estructura. Estas malformaciones quedan clasificadas como grupos A, B y C de mayor a menor severidad. Oscilan desde la aparición de la válvula semilunar como cojinetes irregulares por engrosamiento excesivo del tejido valvular (grupo A) hasta imperfecciones comisurales y pequeñas proliferaciones redondeadas en la cara ventricular de las cúspides valvulares (grupo C).

Las alteraciones cardíacas se observaban en el séptimo día de desarrollo pero las alteraciones valvulares no aparecían hasta el décimo día de desarrollo, afectándose más

frecuentemente la válvula aórtica. La intensidad y frecuencia de alteraciones valvulares fue mayor en los corazones más adultos y en aquellos que presentaban alteraciones más severas de la septación cardíaca.

Los autores piensan que las alteraciones cardíacas son debidas probablemente a los cambios hemodinámicos inducidos por la barrera mecánica. Las alteraciones de las válvulas semilunares se encuentran en íntima relación con las alteraciones hemodinámicas presentes en los corazones malformados. La válvula aórtica resulta ser la más afectada, coincidiendo con el lugar de mayor incidencia de anomalías cardíacas. El argumento más importante a favor del origen hemodinámico de las malformaciones valvulares es su aparición hacia el décimo día de incubación, momento en el que el desarrollo valvular ha concluido.

ARANEGA Y COL (1985) producen experimentalmente tetralogía de Fallot en el embrión de pollo alterando el desarrollo del cono y retrasando la desaparición del surco conoventricular mediante una ligadura alrededor de la porción proximal del cono durante 24 horas en embriones de estadios 17 a 21 de H-H alterando la hemodinamia de la región conal.

Para los autores, la septación anormal del cono determina la aparición de estenosis pulmonar; el defecto septal ventricular es el resultado de mal alineamiento de los componentes del septum ventricular y la aorta a caballo (o doble salida del ventrículo derecho) depende del mayor o menor obstáculo al desarrollo del surco conoventricular. Dos factores

influyen en el proceso normal de septación a nivel de cono y truncus: factores hemodinámicos y células endocárdicas.

JAFFEE (1965) que actúa sobre el polo venoso cardíaco, suturando la vena vitelina anterior o posterior, obtiene defecto septal ventricular y tabicación bulbar incompleta. Mediante la aplicación de azul tripán a embriones de pollo entre 32 y 57 horas de incubación observa gran flujo interventricular.

CLARK (1969) mediante la compresión del conducto de Cuvier con microclips de alambre entre los estadios 20 y 24 de H-H obtiene dextrorrotación aórtica y disminución de la luz de la arteria pulmonar. Atribuye sus resultados a la intervención de las corrientes sanguíneas.

ROHR Y VAUPEL (1973) ligan la vena vitelina derecha entre los estadios 18 y 24 de H-H con hilo de diez ceros. Reincubando hasta el estadio 36 de H-H, obtiene defecto septal ventricular y dextrorrotación aórtica.

Actuando directamente sobre el corazón, DOMENECH Y REIG (1980) introducen una hebra de nylon de 90 $\mu$  de diámetro en el ángulo aurículo-ventrículo-conal obteniendo persistencia de la comunicación interventricular con o sin doble salida del ventrículo derecho.

JAFFEE (1976) somete a embriones de pollo de estadios 11 a 17 de H-H a hipoxia y a hipoxia e hipercapnia. Obtiene anomalías en los tubos cardíacos y patrones de flujo sanguíneo, defecto septal ventricular y doble salida del ventrículo derecho.



DE LA CRUZ Y COL (1966) someten embriones de pollo a hipotermia con lo que se producen defectos septales ventriculares por retraso en el crecimiento que afecta al cierre de la porción basal del septum interventricular.

GILANI Y JAFFEE (1971) estudian los efectos de la radiación X e hipotermia y consiguen defectos septales ventriculares junto a válvulas sigmoideas anómalas.

También mediante factores químicos se producen alteraciones de la septación bulbo-ventricular. Así, administrando propanolol a embriones de pollo de tres-cuatro días de incubación, GILANI Y SILVESTRI (1977) obtienen defectos septales ventriculares y defectos en las válvulas sigmoideas y aurículo-ventriculares.

Tras la administración de algunas aminas simpaticomiméticas (dopamina, isoproterenol, adrenalina y noradrenalina), KUHLMANN Y COL (1983) aprecian defectos septales ventriculares.

RAJALA Y COL (1984) administran epinefrina a embriones del estadio 24 de H-H y observan defectos septales ventriculares. El mismo resultado encuentran BRUYERE Y COL (1984) tras administrar epinefrina en embriones al cuarto día de incubación.

MATSUOKA Y COL (1984) administran teofilina a embriones de tres a once días de incubación. Sus resultados son: defecto septal ventricular subaórtico con aorta a caballo, defecto septal ventricular infundibular, doble salida del ventrículo derecho y defecto septal ventricular. Han observado también la

producción de aneurismas aórticos.

Mediante la administración de sulfato de dextroamfetamina a embriones del estadio 24 de H-H CAMERON Y COL (1984) observan también defectos septales ventriculares. Ellos explican estos defectos por aumento de la presión ventricular principal.

De los resultados obtenidos por otros autores sobre la septación bulbar, mediante diferentes técnicas y productos, deducimos que el factor hemodinámico juega un papel trascendental para que la septación a este nivel se desarrolle normalmente. La frecuencia con la que aparecen alteraciones a nivel bulbar, ya sea en nuestros propios resultados o a través de los resultados que han obtenido otros investigadores, nos empuja a concluir que la discrepancia de presiones producida al modificar una de las corrientes sanguíneas determina un desequilibrio hemodinámico responsable de la patogenia de la anomalía.

Un aspecto muy importante sobre el que debe profundizarse es el esclarecimiento del origen de las válvulas semilunares. Estas estructuras delimitan el truncus arteriosus del bulbus cordis pero, en realidad, desconocemos si derivan de la primera o segunda de las porciones cardíacas citadas. Para DE LA CRUZ Y COL (1977), la válvula semilunar pulmonar deriva de las paredes del truncus.

#### MALFORMACIONES TRUNCALES

Las malformaciones a nivel de truncus arteriosus han presentado una incidencia muy escasa dentro de nuestros embriones: 1,81% de las malformaciones individualizadas y 0,94% de los embriones seleccionados.

Hemos podido estudiar dos casos de ausencia de septum aorto-pulmonar y un caso de ventana aorto-pulmonar. Dos de ellos se asociaban a alteración en la cronología de la fusión de los cojinetes atrio-ventriculares. En los tres casos se suprimió el aporte sanguíneo a través de la vena vitelina izquierda, en estadios de intervención entre el 15 y 19 de H-H alcanzando, en el momento de la fijación, estadios comprendidos entre el 24-25 y 28-29 de H-H.

Uno de los embriones que presentaba ausencia del septum aorto-pulmonar corresponde al LV-233 (lámina 44: figuras 2 a 6). Puede observarse un gran desarrollo de la porción dorsal de los cuartos arcos aórticos. Al parecer, no se ha producido una buena absorción del saco aórtico. En la figura 1 puede apreciarse la microftalmia izquierda que presentaba este embrión.

En otro de los embriones, LV-48, pudo objetivarse un defecto parcial en la septación truncal comunicando la aorta con la arteria pulmonar. Este embrión, fijado en el estadio 28 de H-H, debería presentar una septación truncal completa como se produce normalmente en el estadio 27 de H-H (SISSMAN,

1970).

El truncus no pertenece propiamente al corazón sino al sistema arterial, derivando del alargamiento y dilatación del saco aórtico, porción de la que derivan los arcos arteriales. Estos arcos arteriales, principalmente el tercero, cuarto y sexto "anclan" el truncus a la cara dorsal de la faringe impidiendo que sufra rotaciones (ORTS-LLORCA Y COL, 1981). Su formación depende de la invaginación y alargamiento del saco aórtico en el interior de la cavidad pericárdica acompañado por mesénquima peribranchial (DE VRIES, 1981).

Al parecer el avance del mesénquima que determina la septación a nivel del truncus es de causa hemodinámica (McBRIDE Y COL, 1981). Entre los sextos y cuartos arcos se origina una cuña de mesénquima (crista dividens) que será el primer esbozo del septum aorto-pulmonar (ORTS-LLORCA Y COL, 1982).

En el embrión de pollo, el desarrollo del septum aorto-pulmonar se aprecia en el cuarto día de desarrollo (JAFEE, 1977). Las corrientes sanguíneas fluyen en los arcos aórticos, de forma que la corriente izquierda se introduce en el cuarto arco y la derecha en el sexto. El tercer arco pasa a ser rama del cuarto debido probablemente al modelado del tracto bulbar en su totalidad.

Para PEXIEDER (1978) el truncus arteriosus presenta una estructura histológica similar a la de los vasos periféricos sin engrosamientos endocárdicos ni miocardio. La septación de esta porción del corazón embrionario es independiente de la

septación bulbar.

Según LAANE (1978), la septación del polo arterial del corazón en el embrión de pollo se inicia en el mesénquima ventral al intestino. Aquí la luz del truncus se divide en una corriente aórtica cranealmente dirigida (hacia el tercer y cuarto pares de arcos aórticos) y una corriente pulmonar caudalmente dirigida (hacia el sexto par de arcos aórticos). El mesénquima entre los orígenes de ambas corrientes llega a acentuarse como "septum" aórtico-pulmonar en forma de cuña. Durante el quinto día, la aorta, el tronco pulmonar y sus ramificaciones pasan de una posición retropericárdica a otra intrapericárdica. Durante la primera mitad del sexto día, el septum aorto-pulmonar crece hacia las crestas truncales distales en proceso de fusión. Durante la segunda mitad del sexto día, el proceso de fusión se extiende en sentido proximal.

A continuación destacamos los resultados de otros autores que obtienen malformaciones a nivel truncal, actuando bien sobre el polo arterial del corazón, sobre el polo venoso o directamente sobre el corazón y también mediante factores físicos y químicos.

MANHOFF Y JOHNSON (1951) realizando electrocoagulación del sexto arco aórtico derecho en embriones de pollo de tres días de edad obtienen, además de los resultados que hemos mencionado anteriormente, truncus arteriosus común, estenosis de la arteria pulmonar derecha, ausencia de la arteria pulmonar derecha y ausencia del ductus arterioso derecho.

CLARK Y ROSENQUIST (1978) y CLARK Y COL (1984) obtienen anomalías del arco aórtico derecho (ausencia, interrupción e hipoplasia tubular) así como persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo introduciendo un hilo de sutura de diez ceros a través de la curva más interna del asa cardíaca cerrando el cono-truncus a un diámetro de 0,4 mm en embriones del estadio 21 de H-H. El espectro de anomalías conseguidas sugiere a los autores que la constricción del asa cardíaca altera la distribución del flujo a los arcos aórticos embrionarios.

ORTS-LLORCA Y COL (1980) obtienen un tronco arterial único de salida cuando ligan la vena vitelina izquierda en embriones de pollo del estadio 16 de H-H.

HARRH Y COL (1973) consiguen estenosis valvular aórtica así como hipoplasia tubular de aorta y vasos braquiocéfálicos actuando directamente sobre la región del canal atrio-ventricular izquierdo en la que introducen un hilo de nylon de 90 $\mu$  de diámetro en embriones de los estadios 23 a 25 de H-H.

KIRBY (1985) y KIRBY Y COL (1983, 1985) establecen una relación entre las células de la cresta neural y la septación aorto-pulmonar. El septum del saco aórtico y región cono-truncal del corazón se forman por derivados ectomesenquimales de la cresta neural en los somitos 1-3. La resección de esta región de la cresta neural premigratoria da lugar a corazones con defectos cono-truncuales y del septum aorto-pulmonar. Las anomalías oscilan en severidad desde defecto septal ventricular a truncus arteriosus común.

GILANI Y JAFFEE (1971) estudian los efectos de la radiación X e hipotermia sobre el embrión de pollo obteniendo: estenosis aórtica, truncus arteriosus común e inhibición de desarrollo del arco aórtico.

GILANI Y SILVESTRI (1977) administran propanolol a embriones de tres-cuatro días de incubación. Obtienen: estenosis aórtica y truncus arteriosus común.

BRUYERE Y COL (1986) investigan el efecto de la administración de cafeína a embriones de pollo del estadio 19 de H-H. Las malformaciones más importantes incluyen: truncus arteriosus común y dextroposición de la aorta junto con defecto septal ventricular con/sin estenosis pulmonar. Dentro de los tres primeros minutos tras la exposición a cafeína se observó dilatación ventricular y contractilidad ventricular débil que persistió durante una hora.

Por el escaso número de malformaciones truncales que hemos obtenido al modificar las condiciones hemodinámicas, nos parece que la influencia del factor hemodinámico no juega un papel tan fundamental en la génesis del septum aorto-pulmonar a pesar de que McBRIDE Y COL (1981) piensen que el avance del mesénquima que determina la septación a nivel del truncus es de causa hemodinámica. Es difícil obtener la detención o anomalía en la septación truncal y, por el contrario, hemos visto que las malformaciones bulbares son extraordinariamente frecuentes y las que se producen en los arcos aórticos presentan también una relativa incidencia tras la supresión del aporte vitelino.

Con respecto a los trabajos de KIRBY Y COL (1983,1985) que intentan establecer una relación entre las células de la cresta neural y la septación aorto-pulmonar, sería discutible si los defectos cono-truncales y del septum aorto-pulmonar que obtienen se deben a falta de células o de actuación de los derivados ganglionares crestales.

Los factores físicos como es la radiación X e hipotermia (GILANI Y JAFFEE, 1971) y químicos tales como la administración de propanolol (GILANI Y SILVESTRI, 1977) o cafeína (BRUYERE Y COL, 1986) producen truncus arteriosus común como hemos podido comprobar al analizar los resultados de estos autores. En el caso del propanolol y de la cafeína no queda suficientemente claro el mecanismo de acción de la droga, puesto que puede verse alterada la respuesta del receptor adrenérgico.

#### MALFORMACIONES DE ARCOS AÓRTICOS

La frecuencia de este grupo malformativo asciende a 7,27% de todas las malformaciones producidas y 3,78% de los embriones fijados.

Hemos podido observar las anomalías de los arcos aórticos de forma aislada o, más frecuentemente, acompañando a alguna otra alteración en otro nivel.

La aparición de estas alteraciones es más precoz cuando



se interviene sobre el lado izquierdo (estadio de intervención 11-12 de H-H) y también más frecuentemente (7 casos). Al intervenir sobre el lado derecho, observamos cómo empiezan a aparecer a partir del estadio de intervención 16-17 de H-H y su incidencia desciende (5 casos).

Junto a los defectos de arcos aórticos que hemos podido analizar con anterioridad comentando láminas por alteraciones de otras estructuras, en la lámina 45 apreciamos las microfotografías del embrión LV-211 fijado en el estadio 34 de H-H tras ser sometido a cauterización y sección de los vasos vitelinos izquierdos en el estadio 22-23 de H-H. En los cortes superiores (figuras 1 y 2), el tercer arco aórtico derecho es una formación redondeada que no presenta luz en su interior. En la misma lámina 45, pueden observarse también las imágenes correspondientes al embrión LV-62 (figuras 5 y 6) con persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo puesto que se fijó en un estadio 31-32 de H-H.

La desaparición de unos arcos aórticos y la persistencia de otros constituye el resultado de las condiciones hemodinámicas y determina la influencia que ejerce la corriente sanguínea sobre la persistencia de los arcos aórticos definitivos (ROMANOFF, 1960). Para BREMER (1927/1928) la regresión normal del cuarto arco aórtico izquierdo se debe a causas mecánicas.

JAFFEE (1967) cree que durante el tercer día de desarrollo embrionario, la corriente izquierda sale del bulbus introduciéndose en los arcos aórticos segundo y tercero. La

corriente derecha sale en el bulbus en una situación posterior, introduciéndose en los arcos aórticos tercero y cuarto.

El cambio posterior en la ruta del tracto de salida bulbar es un factor que colabora a la vascularización del sexto arco al comienzo del cuarto día de desarrollo (JAFEE, 1965). Un aumento de volumen sanguíneo dirigido a la corriente derecha en el cuarto día parece contribuir además al desarrollo del sexto arco.

Tras el desarrollo del septum aorto-pulmonar en el cuarto día de desarrollo, las corrientes sanguíneas fluyen en los arcos aórticos de forma que la corriente izquierda se introduce en el cuarto arco y la derecha en el sexto. El tercer arco pasa a ser rama del cuarto (JAFEE, 1967).

Si analizamos cada caso de malformación a nivel de los arcos aórticos alterados con la corriente que le fue suprimida al embrión, no obtenemos una correspondencia superior al 50% entre el lado que fue intervenido y el arco aórtico que debiera haber resultado alterado teniendo en cuenta las conclusiones a las que llega JAFEE en la publicación que hemos mencionado en el párrafo anterior. De esta forma, suprimiendo la corriente derecha hemos obtenido ausencia del tercer arco aórtico derecho junto a hipoplasia del sexto arco aórtico derecho (LV-507). En otra ocasión, al suprimir la corriente izquierda se produce ausencia del sexto arco aórtico (LV-70).

Dentro de los autores que han obtenido alteraciones de los arcos aórticos, podemos mencionar a RYCHTER (1962) que coloca un clip de plata suprimiendo la circulación del cuarto o sexto

arco aórtico al tercer o cuarto día de incubación con lo que se produce agenesia del cuarto arco aórtico derecho.

**GESSNER (1966,1978) y GESSNER Y VAN MIEROP (1970)** introducen un gancho de Stephan en la región troncoconal cardíaca en embriones de pollo de los estadios 19 y 20 de H-H. Obtiene: ausencia del sexto arco aórtico izquierdo, atresia del cuarto arco aórtico derecho, persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo, ausencia de la arteria pulmonar derecha, interrupción completa del arco aórtico, etc.

**PEXIEDER (1969)** introduce microclips interrumpiendo la circulación a través del sexto arco aórtico al tercer-cuarto día de incubación y obtiene persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo.

**COLVE Y HURLE (1983)** introduciendo un alambre de tungsteno de 20µm de diámetro debajo de la porción tronco-conal cardíaca en embriones de 3,5 días obtiene anomalías a nivel de los arcos aórticos superponibles a las que obtiene **GESSNER (1966)** y que hemos enumerado con anterioridad.

**JAFFEE (1965)** aplica azul tripán a embriones de pollo entre 32 y 57 horas de incubación observando inhibición del desarrollo del tercer y cuarto arcos aórticos junto a un gran flujo interventricular.

**KUHLMANN Y COL (1983)** estudian el efecto de cuatro aminas simpaticomiméticas: dopamina, isoproterenol, adrenalina y noradrenalina. Obtienen anomalías de los arcos aórticos tercero, cuarto y sexto que se presentan conjuntamente con defectos septales ventriculares.

RAJALA Y COL (1984) administran epinefrina a embriones del estadio 24 de H-H y obtienen obliteración o persistencia de arcos aórticos y defectos septales ventriculares. La obliteración de arcos aórticos coincide con el registro de una presión ventricular disminuida y la presencia de arritmias cardíacas. Por el contrario, la persistencia anómala de arcos aórticos y los defectos septales ventriculares aparecían en situaciones de presión ventricular elevada sin que observaran arritmias cardíacas.

CAMERON Y COL (1984) suministran sulfato de dextroamfetamina a embriones del estadio 24 de H-H y obtienen persistencia del cuarto arco aórtico izquierdo junto a defectos septales ventriculares. Los autores atribuyen la producción de estas malformaciones al aumento de presión ventricular.

CLARK (1986) piensa que el mecanismo común en las malformaciones de los arcos aórticos responde a un trastorno en la migración de tejido mesenquimatoso o células de la cresta neural. La septación cono-truncal sin anomalías obvias de los arcos aórticos puede ser una consecuencia de los mismos mecanismos, pero en un grado menor.

Como se desprende de los resultados obtenidos por otros autores y de los que hemos conseguido nosotros al suprimir la circulación vitelina, las malformaciones en arcos aórticos son secundarias a las alteraciones que se han producido en la septación cardíaca y dependen de éstas últimas. No pensamos que se puedan deber, exclusivamente, a la influencia del factor hemodinámico, sino a la concomitancia de varios

factores: flujo, malformaciones cardíacas presentes, etc.

#### OTRAS MALFORMACIONES CARDÍACAS; ECTOPIA CORDIS

La ectopia cordis se ha presentado con una frecuencia del 18,1% con respecto a todas las malformaciones y 0,94% con respecto a los embriones fijados.

Los tres casos de ectopia cordis que hemos podido estudiar: LV-101 (lámina 46), LV-477 (láminas 27 y 28) y LV-498 (láminas 7 y 8) fueron intervenidos entre los estadios 16 y 18 de H-H mediante ligadura y sección de los vasos vitelinos izquierdos mediante presión y tracción en un caso (LV-101) y mediante microcauterización y sección de los vasos vitelinos derechos en los otros dos embriones (LV-477 y LV-498).

La ectopia cordis se ha acompañado en todos los embriones de celeosomía y no podemos descartar la influencia directa de nuestra técnica utilizada, en la proximidad del cuerpo embrionario, sobre la génesis de estas malformaciones.

STEPHAN (1955) suprime la vena vitelina derecha en embriones de 27 a 32 horas de incubación y obtiene también ectopia cardíaca y celosomías.

ROHR Y VAUPEL (1975) observan también ectopia cardíaca tras la ligadura de la vena vitelina derecha en embriones de pollo de estadios 18 a 24 de H-H con hilo de diez ceros.

En nuestra opinión, la ectopia cordis se debe a alteración

mecánica sobre el cierre de la pared anterior durante la intervención.

#### MALFORMACIONES EXTRACARDIACAS

Las malformaciones extracardiacas han sido agrupadas en tres grandes apartados (Ver Resultados: Estudio Morfológico):

1) Alteraciones en la morfología general del cuerpo o extremidades del embrión. En este primer grupo destaca la celosomía como malformación más frecuente: 6,06% consideradas individualmente y 3,15% de los embriones fijados. En el apartado anterior hemos comprobado cómo la ectopia cardíaca siempre se acompaña de celosomía pero no a la viceversa, es decir, hemos recogido ejemplos de embriones con celosomía sin alteración en la situación del corazón. Al igual que concluimos en la interpretación de la ectopia cardíaca, pensamos que la celosomía puede deberse fundamentalmente a la influencia directa de la técnica utilizada. En nuestra serie se ha producido con una frecuencia idéntica si el lado intervenido fue el izquierdo o el derecho (lámina 46: LV-101; LV-103).

COLVE Y HURLE (1983) introducen un alambre de tungsteno de 20µm de diámetro debajo de la porción tronco-conal cardíaca en embriones de 3,5 días. Junto a las malformaciones cardíacas y de valvulas semilunares, que ya hemos comentado con

anteriorida, observan alteración de la pared anterior del cuerpo, alteración del pericardio, alteración en el origen y distribución de las arterias coronarias, etc.

2) Alteraciones en el desarrollo del sistema nervioso. En este grupo la malformación más frecuentemente obtenida es la raquisquisis: 4,24% de todas las malformaciones y 2,20% de los embriones fijados. En la etiopatogenia de esta malformación tampoco podemos descartar el efecto directo de la técnica empleada en la proximidad del cuerpo embrionario, teniendo en cuenta que siempre se han producido raquisquisis a nivel lumbar coincidente con el lugar en que hemos actuado sobre los vasos vitelinos (lámina 47: figuras 3 y 4; LV-586). El mayor número de casos de raquisquisis observado coincide con la intervención en el lado derecho, lo que apoya aún más la hipótesis de que su patogenia está íntimamente relacionada con el efecto directo de la técnica empleada.

Como alteraciones a nivel del sistema nervioso central, hemos podido analizar tres casos muy interesantes: hipoplasia del sistema nervioso central en el lado izquierdo (LV-575: lámina 6); hipoplasia del lóbulo óptico izquierdo (LV-332) y exencefalia (LV-586: lámina 47). La mayoría de estos embriones fueron intervenidos mediante supresión de la circulación vitelina en el lado derecho, en un estadio de intervención medio que alcanzó el estadio 17-18 de H-H, coincidiendo con el momento en que la corriente sanguínea derecha es de mayor importancia que la izquierda. No podemos descartar

absolutamente el efecto mecánico directo, al menos en dos de los tres casos citados en los que al suprimirse la corriente derecha , el cuerpo embrionario queda más próximo a nuestros instrumentos empleados.

3) Alteraciones en el desarrollo ocular. De este apartado, la microftalmia izquierda es el defecto más frecuente: 10,30% de todas las malformaciones y 5,36% de todos los embriones fijados . Junto a esta malformación, hemos encontrado también un caso de anoftalmia izquierda (LV-586: lámina 47) y otro de microftalmia derecha (LV-57). Es necesario tener en cuenta que la incidencia de alteraciones oculares y, concretamente de microftalmia , de forma espontánea en las razas que hemos estudiado es prácticamente nula ( 1 %.).

La mayoría de los embriones que presentaban microftalmia izquierda (12 de un total de 17 embriones) correspondían a la supresión de la vena vitelina derecha y tan sólo cinco casos se había eliminado la vena vitelina izquierda. El valor medio del estadio de intervención corresponde al estadio 17 de H-H, es decir, el comienzo de tercer día de desarrollo cuando, según JAFFEE (1967), la corriente izquierda sale del bulbus introduciéndose en los arcos aórticos segundo y tercero. La corriente derecha sale en el bulbus en una situación posterior, introduciéndose en los arcos aórticos tercero y cuarto. Según estos criterios, la supresión del aporte vitelino derecho al comienzo del tercer día de desarrollo



podría comprometer la salida del flujo a través de los arcos aórticos tercero y cuarto, hecho que podría influir en la génesis de las malformaciones del sistema nervioso central y estructuras oculares.

La obtención de microftalmia izquierda al suprimir la corriente derecha se contradice con los resultados de malformaciones en arcos aórticos que hemos podido analizar, ya que tan sólo en un 50% de los casos se corresponde el arco aórtico malformado con la corriente suprimida según los criterios de JAFFEE (1967).

La microftalmia izquierda se ha presentado más frecuentemente de forma aislada, en tres casos acompañándose de malformaciones bulbares y en dos de malformaciones a nivel del canal atrio-ventricular.

En las láminas 48 y 49 pueden observarse varios ejemplos de microftalmia izquierda. En la lámina 49 (figuras 3 y 4) podemos apreciar no sólo la microftalmia izquierda sino el desarrollo anómalo que presentan dichas estructuras oculares.

ORTS-LLORCA Y COL (1959) obtienen hipoplasia del telencéfalo izquierdo y microftalmia izquierda cuando ligan la vena vitelina izquierda.

RYCHTER Y LEMEZ (1963) interpretan los resultados de las microftalmias izquierdas obtenidas por ORTS-LLORCA como alteraciones provocadas en el flujo sanguíneo que atraviesa los arcos aórticos segundo y tercero. Creen que una gran pérdida sanguínea en embriones de más de dos días de incubación origina una microftalmia izquierda sobre el quinto día de

incubación.

MURILLO FERROL (1965) ligan la vena vitelina derecha en embriones de pollo de estadios 14 a 17 de H-H mediante la introducción del gancho de Stephan. Obtiene menor frecuencia de malformaciones nerviosas y oculares si liga la vena vitelina izquierda. Observa tres casos de macroftalmía izquierda que atribuye a un aumento de la presión venosa intraembrionaria o por activación trófica.

GRABOWSKI Y PAAR (1958) estudian los efectos de la hipoxia sobre embriones de 18 horas a nueve días. Encuentran malformaciones en sistema nervioso central y ojo que no describen. Aprecian también anomalías en corazón y grandes vasos.

DE LA CRUZ Y COL (1966) someten embriones de pollo a cambios de temperatura. Al aumentar la temperatura, se producen malformaciones de ojo y sistema nervioso central. Al disminuir la temperatura, observan defectos septales ventriculares.

Al plantearnos nuestro trabajo de investigación, el objetivo fundamental que pretendíamos era conseguir estudiar la influencia del factor hemodinámico sobre la septación cardíaca obviando el efecto de otras técnicas tales como la producción de turbulencias cuando se actúa sobre el polo arterial o la introducción de barreras mecánicas cuando se interviene directamente sobre el corazón. Por el contrario,

la ligadura y sección de los vasos vitelinos en los dos lados, mediante las diferentes técnicas que hemos empleado, asegura la acción sobre las corrientes sanguíneas de forma aislada cuando el aporte vitelino supone el mayor volumen de sangre oxigenada al corazón embrionario en desarrollo, es decir, hemos actuado de forma directa y sobre el factor hemodinámico a distancia del cuerpo embrionario. No obstante, tampoco es un análisis puro puesto que no podemos obviar el factor hipoxia.

Por tanto, creemos que las malformaciones cardíacas y extracardiacas que hemos obtenido son malformaciones espontáneas debidas a las alteraciones producidas en el flujo sanguíneo, a diferencia de aquéllas que introducen otros factores, como son las barreras mecánicas, que podemos denominar malformaciones experimentales.

Los aspectos relacionados con la etiopatogenia de la enfermedad cardíaca congénita permanecen todavía poco claros. Al parecer, el periodo completo de gestación puede considerarse como periodo teratogénico (DANKHEIJER, 1964). El corazón es un órgano de desarrollo muy precoz por lo cual su embriogénesis puede verse alterada desde los primeros momentos aunque las manifestaciones clínicas pueden presentarse tras el nacimiento, momento en el que se producen importantes cambios circulatorios.

La máxima frecuencia de malformaciones cardíacas se produce durante el periodo de mayor desarrollo de este órgano: quinta a séptima semanas en el embrión humano (CHUASUI Y

BERSCH, 1972; GRAY-SKANDALAKIS, 1975; JAFFEE, 1979).

JAFFEE (1979) destaca la importancia de factores ambientales, como la hipoxia, que produce cambios fisiológicos reversibles en el embrión pero que alteran la estructura cardíaca.

DE LA CRUZ Y COL (1971) analizan los factores etiológicos en la génesis de las malformaciones congénitas. Dentro de estos factores hay que considerar dos grupos: factores extrínsecos e intrínsecos que están íntimamente relacionados.

Los factores extrínsecos pueden ser físicos, químicos o biológicos: virus (rubéola, coxsackie B), hipoxia, drogas y hormonas administradas a la madre y radiaciones.

Los factores intrínsecos son alteraciones aparentemente espontáneas en el ácido desoxirribonucleico en el interior de los cromosomas del núcleo. Son factores de origen genético.

NORA Y HART NORA (1984) analizan la contribución genética y ambiental en la producción de cardiopatías congénitas.

Con respecto a los factores genéticos, la mayoría de los casos no puede explicarse por herencia mendeliana o aberraciones cromosómicas, sino que parece más consistente el mecanismo de la herencia multifactorial, en la cual subyace la interacción genética-ambiental. Aproximadamente un 3% de los pacientes presenta una base mendeliana que justifique su anomalía cardiovascular y un 5% trastornos cromosómicos variados. Las anomalías autosómicas conlleva un alto riesgo de malformaciones cardíacas, mientras que las anomalías del cromosoma X producen grados variables de riesgo. Finalmente, un

porcentaje aproximado al 90% podría explicarse como predisposición genética sobre las que actúan influencias ambientales.

Para NORA Y HART NORA (1984), sobre los factores ambientales podemos realizar nuestra mejor labor preventiva conociendo los periodos de máxima vulnerabilidad de las distintas estructuras cardiacas en desarrollo. Los límites varían de unos agentes teratogénicos a otros. Las malformaciones que afectan a la septación tronco-conal se han producido antes de los 34 días de concepción, momento en el que concluye dicho proceso de septación. De este forma, el agente teratogénico puede actuar y producirse la malformación antes, incluso, de que la madre sepa que está embarazada. Por el contrario, existen otras lesiones como es la estenosis periférica de la arteria pulmonar (secundaria a la rubéola) y estenosis aórtica (secundaria a la hiperlipoproteinemia homocigótica tipo IIa) que son lesiones estructurales que progresan tras el nacimiento.

Dentro de los agentes potencialmente teratogénicos, existen drogas evitables y otras que no lo son. En el segundo grupo destacan los anticonvulsivantes, como es la hidantoína o las sales de litio en ciertos casos de psicosis maniaco-depresivas. Las sustancias evitables incluyen la ingesta de alcohol, amfetaminas o, incluso, el tratamiento de mujeres embarazadas con hormonas sexuales (estrógenos, progesterona) que produce una incidencia 2,3 veces mayor de malformaciones cardiacas con respecto a las mujeres que no han

recibido estos preparados.

Los factores ambientales de NORA Y HART NORA (1984) o extrínsecos para DE LA CRUZ Y COL (1971) juegan un papel fundamental en la génesis de la mayor parte de las malformaciones cardíacas congénitas, ya que los factores genéticos o intrínsecos, de forma aislada, desempeñan un papel poco importante siendo responsables de un grupo muy reducido de defectos cardíacos congénitos. Utilizando un modelo experimental como es el embrión de pollo y modificando el aporte sanguíneo oxigenado en momentos decisivos de la cardiogénesis, comprobamos que es factible la reproducción de malformaciones cardio-vasculares como pudieran actuar probablemente los factores físicos, químicos, biológicos, etc. sobre el corazón humano en desarrollo.

No debe descartarse que los factores químicos ( $\beta$ -bloqueantes), físicos (hipertermia, hipoxia, etc) puedan provocar malformaciones en el patrón hemodinámico normal del sistema cardiovascular en desarrollo. Las malformaciones "espontáneas" de estructuras cardíacas y vasculares deben ser analizadas con sumo cuidado. La predisposición genética aumenta la probabilidad de que aparezca una malformación determinada cuando han actuado una serie de factores ambientales sobre un embrión.

## CONCLUSIONES

### **CONCLUSIONES**

1) La supresión de la circulación vitelina produce una elevada mortalidad: 73,42% de los embriones intervenidos. Es probable que aparezcan malformaciones incompatibles con la vida ya en estadios precoces del desarrollo.

2) La mortalidad para los embriones intervenidos en el lado izquierdo es de 68,37%, mientras que para los intervenidos en el lado derecho asciende a 75,77% .Este incremento de la mortalidad para el lado derecho podría quedar justificado por el calibre mayor de la corriente derecha a lo largo del tercer día de desarrollo (estadio 18 de H-H), momento en el que practicamos la mayor parte de nuestras intervenciones.

3) La mayor población de embriones, intervenidos y supervivientes, se localiza en los estadios 16 a 18 de H-H, correspondiendo a la fase de individualización y desarrollo de los vasos vitelinos, ofreciendo las mejores posibilidades para su acceso quirúrgico con el menor número de complicaciones.

4) Entre los estadios 10 y 14 de H-H se produce un



significativo aumento de la mortalidad. Este período corresponde a la sección del área vascular que es cada vez más agresiva según avanza la diferenciación del embrión. Otra disminución de supervivencia se produce en los estadios 19 y 21 de H-H en relación con un mayor aflujo sanguíneo al embrión que dificulta las intervenciones y una mayor demanda por parte del embrión en desarrollo.

5) En el estadio 16 de H-H se produce un máximo de supervivencia en relación con las mejores condiciones técnicas y acción más efectiva de la revascularización. En el estadio 22 de H-H se produce otro máximo de supervivencia en relación probable con la persistencia de la vena vitelina anterior.

6) Considerando los datos correspondientes a supervivencia y pérdida de desarrollo con las diferentes técnicas empleadas, observamos la menor supervivencia porcentual y mayor pérdida de desarrollo para las técnicas  $D_1$  o sección del área vascular en el lado derecho e  $I_4$  o introducción del gancho de Stephan en el lado izquierdo. Por tanto,  $D_1$  e  $I_4$  son muy lesivas.

7) El mayor número de embriones intervenidos y supervivientes, en valor absoluto, corresponde a las técnicas  $D_3$  o microcauterización en el lado derecho e  $I_1$  o ligadura y sección por presión-tracción en el lado izquierdo. Los embriones supervivientes alcanzan un desarrollo similar a los controles incluyendo el parámetro Crecimiento Medio.

8) Las técnicas 3 o microcauterización y 4 o introducción del gancho de Stephan son menos agresivas en el lado derecho. Las técnicas 1 o sección del área vascular y 2 o ligadura y sección por presión-tracción producen mayor supervivencia en el lado izquierdo. Con la técnica  $I_1$ , que produce buena supervivencia y pérdida de desarrollo en valores medios, el aporte sanguíneo disminuye lo suficiente para provocar lesiones que inhiben el desarrollo sin desencadenar la muerte del embrión. La técnica  $I_2$  es tan agresiva que sólo permite la supervivencia de los embriones estadísticamente resistentes de la distribución de Gauss sin provocar siquiera pérdida de desarrollo en ellos.

9) La longitud vértex-cóccix y la pérdida de desarrollo en relación al estadio de intervención desarrollan curvas casi paralelas a partir del estadio 14 de H-H. Hasta el estadio 13 de H-H presentan una longitud vértex-cóccix homogénea. Por el contrario, la pérdida de desarrollo es tanto menor conforme más pequeño es el embrión.

10) En los estadios 16 y 22 de H-H se producen dos mínimos de pérdida de desarrollo, mientras que aparecen dos máximos de longitud vértex-cóccix en los estadios 16 y 23 de H-H. Existe, pues, una buena correlación entre la pérdida de desarrollo y longitud vértex-cóccix para los embriones intervenidos en los estadios 16 y 23 de H-H.

11) Como consecuencia de 9) y 10), la longitud vértex-cóccix obtenida a partir de nuestros embriones intervenidos debe ser incluida como un parámetro más de desarrollo a partir del estadio 13 de H-H puesto que sigue una distribución análoga a los demás parámetros de la curva de pérdida de desarrollo.

12) Las malformaciones cardíacas, consideradas porcentualmente en relación al estadio de intervención, se agrupan entre los estadios 11 y 22 de H-H, con un máximo en el estadio 15 de H-H y un mínimo en el estadio 20 de H-H. Las malformaciones extra-cardíacas, menos frecuentes que las cardíacas, se agrupan entre los estadios 13 y 21 de H-H presentando dos máximos en los estadios 16 y 20 de H-H y un mínimo en el estadio 19 de H-H.

13) Existen dos períodos malformativos máximos cuando analizamos conjuntamente las malformaciones cardíacas y extra-cardíacas: uno, entre los estadios 14 y 18 de H-H con máximo en el 16 y otro entre los estadios 20 y 22 de H-H con máximo en el 21.

14) Utilizando la probabilidad condicionada para analizar la relación entre malformaciones cardíacas y extra-cardíacas, concluimos que los dos grupos de malformaciones son fenómenos dependientes por lo que es fácil explicar la asociación de una

malformación cardíaca con otra extra-cardíaca.

15) El análisis de la varianza y la distribución de Student aplicados a las relaciones entre supervivencia y aparición de malformaciones, bien sean cardíacas, extra-cardíacas o la suma de ambas, nos indica que se trata de fenómenos relacionados aunque no estrechamente.

16) La mayor proporción de malformaciones, tanto cardíacas a diferentes niveles como extra-cardíacas, corresponde a las intervenciones  $D_3$  o cauterización en el lado derecho e  $I_2$  o ligadura y sección en el lado izquierdo por presión-tracción.

17) Las malformaciones cardíacas más frecuentemente obtenidas corresponden al bulbus cordis (29,69%), canal atrio-ventricular (12,11%), ventrículo (11,51%) y arcos aórticos (7,27%). Los defectos a nivel del truncus arteriosus (1,81%), ectopia cordis (1,81%) y a nivel auricular (1,21%) aparecen con una frecuencia significativamente inferior.

18) El septum inter-atrial se produce por expansión dorsal de las aurículas, como describe PUERTA (1976), independientemente de las corrientes sanguíneas. Secundariamente, su disposición si puede verse alterada por la influencia del factor hemodinámico.

19) A nivel del canal atrio-ventricular, el retraso en el

proceso de fusión de los cojinetes atrio-ventriculares constituye el hallazgo más frecuente, bien de forma aislada o formando parte de malformaciones más complejas. Su aparición es más precoz y numerosa cuando se interviene el lado izquierdo.

20) En algunos embriones intervenidos hemos apreciado comunicación entre aurícula derecha y ventrículo izquierdo, comunicación que aparece normalmente en embriones humanos hasta el estadio 20 (21 mm y más) como tercera raíz del infundíbulo aórtico (ORTS-LLORCA Y COL, 1981) pero que no hemos podido observar en embriones de pollo normales.

21) Hemos apreciado una disposición anómala de los cojinetes atrio-ventriculares con respecto al septum ventricular, sobre todo por parte del cojinete inferior, que no contacta con la parte derecha del vértice del septum ventricular como vemos en embriones normales.

22) La supresión de la corriente sanguínea izquierda determina alteraciones en la cronología de la fusión de los cojinetes o pequeñas modificaciones en su morfología. Por el contrario, la supresión de la corriente derecha altera la disposición de entrada a la aurícula y al canal atrio-ventricular dando lugar a la disposición anómala de los cojinetes atrio-ventriculares y aparición de la comunicación entre aurícula derecha y ventrículo izquierdo.

23) Las alteraciones ventriculares aparecen más precozmente con respecto al estadio de intervención en los casos en que se ha suprimido la circulación vitelina izquierda, mientras que surgen más tardíamente cuando se ha intervenido sobre el lado derecho.

24) No hemos objetivado auténticos ventrículos únicos como obtienen DOR Y COL (1978), DOR Y CORONE (1979) Y ORTS-LLORCA Y COL (1980). En muchos casos apreciamos pequeñas estructuras que podrían corresponderse con el inicio del septum ventricular muscular.

25) En los embriones que hemos analizado con ausencia o dudosa formación del septum ventricular y en aquellos que presentan una disposición septal anómala, tras sufrir la supresión del aporte vitelino, se altera la expansión ventricular normal que es la determinante del desarrollo adecuado del septum ventricular muscular (HARR, 1975).

26) A nivel ventricular se observa una trabeculización ventricular escasa y de disposición atípica originada probablemente tras las turbulencias producidas por la supresión de una corriente sanguínea. Sucede más frecuentemente al eliminar el aporte vitelino derecho.

27) A nivel bulbar, podemos apreciar el mayor número de malformaciones cardíacas: retraso en la fusión de los rodets

bulbares y persistencia de la comunicación interventricular secundaria que aparecen aislada o conjuntamente. También pueden coexistir con malformaciones a otro nivel.

28) Las alteraciones en la cronología normal de la fusión de los rodetes bulbares se refieren al retraso en el proceso de fusión de estas estructuras. El defecto puede observarse a nivel interinfundibular, entre infundíbulo aórtico y ventrículo derecho o a ambos niveles.

29) El retraso en la fusión de los rodetes bulbares aparece más precoz y frecuentemente en los embriones intervenidos en el lado derecho, consecuencia probable del mayor volumen a través de la corriente sanguínea derecha.

30) Es frecuente que la alteración en la cronología de la fusión de los rodetes bulbares se acompañe de disposición anómala del cojinete inferior en su contacto con el septum ventricular, originando una morfología anómala de los infundibulos aórtico y pulmonar.

31) En embriones fijados entre los estadios 33 y 36 de H-H con comunicaciones interinfundibulares, hemos observado anomalías de las válvulas semilunares.

32) El retraso en la fusión de los rodetes bulbares puede deberse a hipoplasia de dichas estructuras.

33) La persistencia de comunicación interventricular secundaria presenta una frecuencia menor que el defecto de fusión de los rodetes bulbares. Aparece más precoz y frecuentemente cuando se interviene en el lado derecho que cuando se suprime el aporte vitelino en el lado izquierdo.

34) El orificio interventricular secundario es mayor en los embriones intervenidos que en los controles del mismo estadio. Su persistencia ha alcanzado calibres tales como 368µ en un embrión que fue fijado en un estadio 35-36 de H-H.

35) El factor hemodinámico juega un papel trascendental para que la septación a nivel bulbar se desarrolle normalmente. La frecuencia con la que aparecen alteraciones a este nivel, tanto en nuestros resultados como los que obtienen otros autores, nos empuja a concluir que la discrepancia de presiones producida al modificar una de las corrientes sanguíneas determina un desequilibrio hemodinámico responsable de la patogenia de la anomalía.

36) El escaso número de malformaciones truncales obtenidas nos hace pensar que la influencia del factor hemodinámico no juega un papel tan fundamental en la génesis del septum aorto-pulmonar.

37) Como se desprende de los resultados obtenidos por



otros autores y de los que hemos conseguido nosotros al suprimir la circulación vitelina, las malformaciones en arcos aórticos son secundarias a las alteraciones que se han producido en la septación cardíaca y dependen de éstas últimas. No pensamos que se deban, aisladamente, a la influencia del factor hemodinámico.

38) La producción de malformaciones a nivel de los arcos aórticos es más precoz y frecuente cuando se interviene sobre el lado izquierdo que cuando se suprime la circulación vitelina derecha.

39) Si analizamos cada caso de malformación a nivel de arcos aórticos con la corriente que le fue suprimida al embrión, no obtenemos una correspondencia superior al 50% entre el lado que fue intervenido y el arco aórtico que debiera haber resultado alterado teniendo en cuenta las conclusiones a las que llega JAFFEE (1967).

40) Las malformaciones extra-cardíacas de mayor frecuencia son: microftalmia izquierda (10,30%), celosomía (6,06%) y raquisquisis (4,24%).

41) En la génesis de malformaciones tales como ectopia cordis, celosomía, hipoplasia de miembro superior izquierdo, raquisquisis, etc. no puede descartarse la acción directa de la técnica empleada.

42) Las malformaciones producidas a nivel de sistema nervioso central y los casos de microftalmía izquierda coinciden con la supresión del aporte vitelino derecho, en el momento en que su volumen es considerablemente superior al izquierdo.

43) La microftalmía izquierda se ha presentado más frecuentemente de forma aislada y, en algunas ocasiones, en embriones con malformaciones bulbares o a nivel del canal atrio-ventricular.

44) Mediante la actuación directa sobre el factor hemodinámico, suprimiendo la circulación vitelina, a lo largo de la cardiogénesis en el embrión de pollo, obtenemos una serie de malformaciones cardíacas y extra-cardíacas que podemos denominar espontáneas, puesto que hemos obviado los elementos mecánicos al actuar a distancia del cuerpo embrionario. No podemos descartar la influencia del factor hipoxia que generamos al suprimir el aporte más importante de sangre oxigenada al corazón.

APENDICE

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL PROTOCOLO DE LAS INTERVENCIONES

ORD: Número de orden del embrión.

E.IN: Estadio de intervención.

IN: Clave del tipo de intervención (Ver Material y Métodos).

T.R: Tiempo de reincubación (horas).

SU: Supervivencia o no de los embriones fijados en el momento de la apertura.

FI: El embrión ha sido fijado (S) o rechazado (n).

E.OB: Estadio de Hamburger-Hamilton (1951) en el que se fijó el embrión.

E.TE: Estadio de Hamburger-Hamilton que le hubiera correspondido al embrión según el estadio de intervención y tiempo de reincubación en cada caso.

D.ETA: Diferencia entre las dos columnas anteriores. El paréntesis equivale a un signo negativo en los casos en que el estadio obtenido fue inferior al que teóricamente se esperaba.

MALF.CARDIACAS: Clave de la(s) malformación(es) cardíaca(s) (Ver Resultados: Estudio Morfológico).

OTRAS MALF.: Idem para la(s) malformación(es) extra-cardíaca(s) (Ver Resultados: Estudio Morfológico).

LVC: Longitud vértex-cóccix en milímetros.

FIJ: Fijación en formol neutro al 10%.

TIN: Tinción con Hematoxilina-Eosina (Hem) y Azan (HEA).

E.C: Espesor del corte en micras.

NP: Número de portas utilizados.

MA: Macrofotografías.

MI: Microfotografías.

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	HALF. CARDIACAS	OTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	NA	NI		
1	16.0	12	96	si	S	23.5	27.5	(4.0)			0.0	For	Hee	7	36	si	no		
2	14.0	12	96	si	S	28.5	30.5	(2.0)			0.0	For	Hee	7	8	si	no		
3	14.5	D2	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
4	15.5	D2	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
5	13.0	12	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
6	14.0	D2	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
7	15.0	D2	72	si	S	29.0	29.0	0.0			0.0	For	Hee	7	10	si	no		
8	15.0	12	96	no	S	24.0	28.0	(4.0)	3.2	1.1	0.0	For	Hee	8	6	si	si		
9	15.0	D2	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
10	22.5	12	24	no	S	25.0	28.0	(3.0)			0.0	For	Hee	8	6	si	no		
11	16.0	D2	72	si	S	30.5	29.0	1.5			0.0	For	Hee	7	10	no	no		
12	16.0	12	72	si	S	30.0	29.0	1.0	2.1		0.0	For	Hee	7	9	no	si		
13	14.0	12	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
14	15.0	12	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
15	17.0	12	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
16	18.0	12	72	si	S	30.0	29.0	1.0			0.0	For	Hee	7	7	no	no		
17	17.0	12	72	si	S	30.5	29.5	1.0			0.0	For	Hee	7	7	no	no		

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	MA	MI		
18	17.0	12	90	si	S	31.0	31.0	0.0	4.1		0.0	For	Hea	7	7	no	si		
19	17.0	12	90	si	S	31.0	31.0	0.0	4.1		0.0	For	Hea	7	9	no	si		
20	17.0	12	90	si	S	30.0	30.0	0.0	4.1		0.0	For	Hea	7	9	si	si		
21	17.0	12	92	si	S	30.5	31.0	(0.5)	4.1	1.3	0.0	For	Hea	7	10	si	si		
22	18.0	12	72	si	S	29.0	29.0	0.0			0.0	For	Hea	7	7	no	no		
23	15.0	12	72	si	S	28.5	29.0	(0.5)	2.1		0.0	For	Hea	7	6	no	si		
24	17.0	12	55	si	S	29.5	28.5	1.0	2.1		0.0	For	Hea	7	5	no	si		
25	19.5	12	48	si	S	29.5	29.0	0.5			0.0	For	Hea	7	7	no	si		
26	20.0	12	51	si	S	30.0	29.0	1.0			0.0	For	Hea	7	6	no	no		
27	20.0	12	48	si	S	29.5	29.0	0.5	4.1		0.0	For	Hea	7	7	no	si		
28	19.0	12	48	no	S	28.5	29.0	(0.5)	2.1/5.1	1.2	0.0	For	Hea	7	5	si	no		
29	16.5	12	90		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
30	16.5	12	78	si	S	30.0	29.0	1.0	4.1/6.2		0.0	For	Hea	8	6	no	si		
31	16.0	12	78		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
32	15.5	12	77	si	S	30.0	29.0	1.0	4.1/2.1		0.0	For	Hea	7	6	no	si		
33	17.0	12	75		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
34	18.0	12	75		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. EST	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	NA	MI		
35	17.0	12	75		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
36	17.0	12	76	si	S	30.5	29.5	1.0			0.0	For	Hea	7	6	no	no		
37	18.0	12	77		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
38	18.0	12	77	si	S	30.0	29.5	0.5			0.0	For	Hea	7	4	no	no		
39	16.5	12	77	no	S	24.5	27.5	(3.0)			0.0	For	Hea	7	5	no	no		
40	16.0	12	87		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
41	17.0	12	89	si	S	31.0	30.0	1.0			0.0	For	Hea	7	5	no	si		
42	16.0	12	96	si	S	29.5	29.0	0.5			0.0	For	Hea	7	5	no	no		
43	17.0	12	94	si	S	29.5	30.0	(0.5)	4.1		0.0	For	Hea	7	6	no	si		
44	16.0	12	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
45	16.0	12	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
46	16.5	C	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
47	17.0	12	96	si	S	30.0	30.0	0.0			0.0	For	Hea	7	7	no	si		
48	15.0	12	90	si	S	28.0	28.5	(0.5)	2.1/5.2		0.0	For	Hea	7	7	no	no		
49	16.0	12	96	si	S	30.0	29.0	1.0			0.0	For	Hea	7	6	no	si		
50	17.0	12	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
51	17.0	12	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				



P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																	
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	NA	NI
52	17.5	12	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
53	17.5	12	48	si	S	25.0	26.5	(1.5)	3.3		0.0	For	Hea	7	5	no	si
54	16.5	12	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
55	16.5	12	96	si	S	31.5	29.5	2.0	4.1		0.0	For	Hea	7	6	no	si
56	17.5	12	103	si	S	31.5	31.0	0.5	4.1/2.4	3.2	0.0	For	Hea	7	30	si	si
57	17.0	12	102	no	S	22.5	31.0	(8.5)		3.3	0.0	For	Hea	7	4	si	no
58	18.0	12	105		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
59	18.0	12	118	si	S	31.5	34.0	(2.5)	4.1	3.2	0.0	For	Hea	7	41	si	si
60	17.0	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
61	17.5	12	122		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
62	18.0	12	122	si	S	31.5	34.0	(2.5)	6.3		0.0	For	Hea	7	11	no	si
63	17.0	12	95		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
64	17.0	12	96	no	S	26.5	30.0	(3.5)		1.3	12.0	For	Hea	7	19	si	no
65	18.0	12	95	si	S	31.5	30.0	1.5	4.1		21.0	For	Hea	7	13	no	si
66	17.0	12	95		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
67	17.0	12	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
68	17.0	12	112		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. EST	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	NA	MI		
69	18.0	12	112		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
70	17.0	12	112	si	5	30.5	32.0	(1.5)	4.1/4.2/6.4		19.0	For	Hea	7	10	no	si		
71	17.5	12	117		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
72	17.5	12	117		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
73	20.0	12	104		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
74	20.0	12	104	si	5	33.5	33.0	0.5			22.0	For	Hea	7	57	no	no		
75	20.0	12	98		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
76	16.5	12	99	si	5	29.5	29.0	0.5			21.0	For	Hea	7	12	no	no		
77	17.0	12	99		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
78	17.0	12	99	si	5	29.5	29.5	0.0	4.1		20.0	For	Hea	7	11	no	si		
79	17.5	12	99		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
80	18.0	12	99		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
81	18.0	12	116	no	5	28.5	33.5	(5.0)			19.0	For	Hea	7	13	no	no		
82	18.0	02	116		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
83	18.0	12	116		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
84	18.0	12	116		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
85	18.0	12	119		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	HALF. CARDIACAS	OTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	MA	MI		
86	18.0	12	119	si	S	33.5	33.5	0.0	4.1		23.0	For	Hea	7	19	no	si		
87	18.0	12	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
88	18.0	12	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
89	17.5	12	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
90	17.5	C	100	si	S	28.5	30.0	(1.5)			20.0	For	Hea	7	11	no	no		
91	17.5	C	118	si	S	34.5	34.0	0.5			21.0	For	Hea	7	14	no	no		
92	18.0	C	123	si	S	34.5	34.5	0.0			23.0	For	Hea	7	18	no	no		
93	18.0	C	96	si	S	28.5	30.5	(2.0)			18.0	For	Hea	7	8	no	si		
94	18.5	C	115		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
95	16.0	12	123		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
96	14.0	11	123		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
97	15.5	14	123		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
98	17.5	12	120	si	S	33.5	33.5	0.0			21.0	For	Hea	8	9	no	no		
99	15.5	12	138		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
100	17.0	12	138		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
101	16.5	12	138	si	S	34.5	34.0	0.5	7.1	1.4	25.0	For	Hea	8	9	no	si		
102	16.5	12	138	si	S	35.0	34.0	1.0			24.0	For	Hea	7	20	no	no		

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	HA	NI		
103	16.0	I2	163	si	S	36.0	35.0	1.0		1.4	29.0	For	Hea	2	17	no	si		
104	16.5	I2	163	si	S	35.5	35.0	0.5		1.4	27.0	For	Hea	8	13	no	si		
105	16.5	I2	150		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
106	16.0	C	120	no	S	31.5	31.0	0.5			21.0	For	Hea	7	10	no	no		
107	17.0	C	136	si	S	35.0	34.0	1.0			25.0	For	Hea	7	11	no	no		
108	16.0	C	162	si	S	36.5	35.5	1.0			29.0	For	Hea	8	23	no	no		
109	13.0	I1	44		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
110	13.0	I1	44		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
111	14.0	I1	44		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
112	13.0	I1	43		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
113	12.0	I1	91	si	S	18.0	28.0	(10.0)			8.0	For	Hea	7	8	no	no		
114	12.0	I1	43		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
115	14.0	I1	45		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
116	11.5	C	96	si	S	27.5	28.5	(1.0)			9.0	For	Hea	7	9	no	no		
117	12.5	I1	45		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
118	14.0	I1	19	si	S	17.0	18.0	(1.0)			10.0	For	Hea	7	8	no	no		
119	13.5	I1	20	si	S	17.0	17.0	0.0			9.0	For	Hea	7	4	no	si		

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																	
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. DB	E. TE	D. ESTA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	MA	MI
120	12.0	C	48	si	S	21.5	21.5	0.0			9.0	For	Hea	7	10	no	no
121	13.0	I1	19	si	S	17.5	17.5	0.0			9.0	For	Hea	7	7	no	si
122	14.0	I1	44	no	S	20.5	22.5	(2.0)	3.1		10.0	For	Hea	7	9	no	si
123	13.0	C	48	si	S	22.5	22.5	0.0			9.0	For	Hea	7	15	no	no
124	14.0	I1	42	si	S	20.5	22.5	(2.0)			9.0	For	Hea	7	13	no	si
125	14.0	I1	19	si	S	16.5	18.0	(1.5)			9.0	For	Hea	7	7	no	no
126	10.5	I1	24	si	S	18.5	17.0	1.5			9.0	For	Hea	7	9	no	no
127	11.5	I1	24	si	S	18.0	18.0	0.0			7.0	For	Hea	7	5	no	no
128	11.0	I1	24	si	S	17.5	17.5	0.0			8.0	For	Hea	7	6	no	no
129	10.5	I1	41	si	S	19.5	18.5	1.0			9.0	For	Hea	7	9	no	no
130	11.5	I1	41	no	S	17.5	21.0	(3.5)			7.0	For	Hea	7	5	no	no
131	11.5	I1	40	si	S	22.0	22.5	(0.5)			9.0	For	Hea	7	8	no	si
132	11.5	I1	41	si	S	21.5	22.5	(1.0)	3.1		9.0	For	Hea	7	3	no	si
133	12.5	C	40	si	S	22.0	22.0	0.0			9.0	For	Hea	7	3	no	no
134	11.5	I1	45	si	S	19.0	22.0	(3.0)			9.0	For	Hea	7	3	no	no
135	11.5	I1	45	si	S	19.5	22.0	(2.5)			8.0	For	Hea	7	4	no	no
136	11.5	I1	45	si	S	20.5	22.0	(1.5)			9.0	For	Hea	7	4	no	no

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SUFI	E. DB	E. TE	D. ESTA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	MA	NI			
137	11.0	C	45	si	S	20.0	21.0	(1.0)			9.0	For	Hea	7	3	no	no		
138	12.0	II	65	si	S	26.0	25.5	0.5			12.0	For	Hea	7	6	no	no		
139	12.0	II	65	si	S	25.5	24.0	1.5			11.0	For	Hea	7	5	no	no		
140	12.0	II	66	si	S	25.0	25.5	(0.5)			10.0	For	Hea	7	6	no	si		
141	11.5	C	66	si	S	26.0	25.5	0.5			11.0	For	Hea	7	4	no	no		
142	12.0	II	70	si	S	26.0	25.5	0.5			11.0	For	Hea	7	3	no	no		
143	11.5	II	70	no	S	23.0	26.0	(3.0)	6.4		8.0	For	Hea	7	5	no	si		
144	10.5	II	70	si	S	25.5	25.5	0.0			9.0	For	Hea	8	3	no	no		
145	11.0	C	70	si	S	26.0	26.0	0.0			10.0	For	Hea	7	4	no	no		
146	11.0	II	88	si	S	27.5	27.0	0.5			12.0	For	Hea	7	6	no	si		
147	11.5	II	88	no	S	24.0	27.0	(3.0)	6.4		9.0	For	Hea	8	5	no	si		
148	12.0	II	87	si	S	27.0	27.0	0.0			9.0	For	Hea	7	5	no	no		
149	11.5	C	88	si	S	28.5	27.0	1.5			14.0	For	Hea	7	8	no	no		
150	11.0	II	93	si	S	27.0	27.0	0.0		3.2	13.0	For	Hea	7	18	no	si		
151	11.0	II	93	si	S	27.0	27.0	0.0			13.0	For	Hea	7	5	no	no		
152	11.5	II	94	n	0.0	0.0	0.0				0.0			0	0				
153	10.5	C	93	si	S	27.5	27.0	0.5			14.0	For	Hea	7	5	no	no		

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	MA	MI		
154	10.5	11	111	si	S	29.5	29.5	0.0			17.0	For	Hea	7	18	no	no		
155	11.5	11	111	si	S	29.5	30.0	(0.5)			17.0	For	Hea	7	6	no	no		
156	11.5	11	112		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
157	11.0	C	112	si	S	30.0	29.0	1.0			12.0	For	Hea	7	6	no	no		
158	11.5	11	112		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
159	12.0	11	117	no	S	27.5	30.0	(2.5)	2.1		13.0	For	Hea	8	8	no	si		
160	11.0	C	117	si	S	31.0	30.0	1.0			18.0	For	Hea	8	6	no	no		
161	18.0	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
162	18.0	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
163	18.0	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
164	18.0	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
165	16.5	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
166	11.0	C	117	si	S	31.0	30.0	1.0			18.0	For	Hea	8	9	no	no		
167	18.0	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
168	18.0	C	144	si	S	35.0	35.0	0.0			29.0	For	Hea	8	13	no	no		
169	18.0	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
170	18.0	12	118	si	S	34.0	34.0	0.0			25.0	For	Hea	8	14	no	si		

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	HALF. CARDIACAS	OTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	NA	NI		
171	18.0	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
172	18.0	12	118	si	S	33.5	34.0	(0.5)			23.0	For	Hea	7	10	no	si		
173	18.0	12	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
174	18.0	12	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
175	18.0	12	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
176	18.0	12	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
177	18.0	12	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
178	16.5	C	117	si	S	33.0	32.0	1.0			21.0	For	Hea	7	8	no	no		
179	18.5	14	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
180	20.5	14	99		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
181	21.0	12	99		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
182	20.5	12	98		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
183	20.5	12	98		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
184	21.5	12	98		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
185	20.5	C	99		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
186	20.5	C	99	si	S	32.5	32.5	0.0			23.0	For	Hea	8	10	no	si		
187	21.0	C	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				



P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																
ORD	E.IN	INT	R	SU	FI	E.OB	E.TE	D.ETA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E.C	MP	HA MI
188	21.5	C	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
189	21.5	12	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
190	23.5	12	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
191	14.0	12	119	si	S	32.0	30.5	1.5	4.1/4.2		17.0	For	Hes	7	16	no si
192	18.0	13	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
193	17.5	13	120	si	S	33.0	33.0	0.0			21.0	For	Hes	7	18	no no
194	16.0	13	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
195	17.5	13	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
196	15.5	13	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
197	18.0	13	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
198	16.5	13	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
199	16.5	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
200	16.5	13	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
201	17.0	13	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
202	16.5	13	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
203	17.0	13	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
204	18.0	13	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E.IN	IN	T.R	SU	FI	E.OB	E.TE	D.ETA	HALF. CARDIACAS	OTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E.C	MP	NA	MI		
205	18.0	13	117	si	S	33.5	33.5	0.0			22.0	For	Hea	7	19	no	no		
206	18.5	13	118	si	S	34.0	34.0	0.0			22.0	For	Hea	7	20	no	no		
207	21.0	13	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
208	21.0	13	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
209	22.5	13	95	si	S	34.0	33.5	0.5			22.0	For	Hea	7	15	no	no		
210	22.5	13	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
211	22.5	13	95	si	S	34.0	33.5	0.5	6.1		21.0	For	Hea	7	13	no	si		
212	22.5	13	96	si	S	33.5	33.5	0.0			20.0	For	Hea	7	17	no	no		
213	23.0	C	96	si	S	33.5	33.5	0.0			21.0	For	Hea	7	17	no	no		
214	22.5	C	96	si	S	34.0	34.0	0.0			21.0	For	Hea	7	16	no	no		
215	23.0	13	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
216	23.0	13	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
217	23.0	C	96	si	S	33.0	34.0	(1.0)			16.0	For	Hea	7	12	no	no		
218	23.0	13	96		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
219	13.5	13	19	no	S	22.5	18.0	4.5			6.0	For	Hea	7	6	no	no		
220	14.5	12	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
221	15.5	12	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	MA	MI		
222	15.5	12	46	no	S	22.0	23.5	(1.5)			7.0	For	Hea	7	4	no	no		
223	14.5	12	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
224	17.5	12	46	si	S	23.0	25.5	(2.5)			11.0	For	Hea	7	13	no	si		
225	17.0	13	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
226	17.0	13	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
227	16.5	13	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
228	16.5	12	47	si	S	23.0	23.5	(0.5)			7.0	For	Hea	7	5	no	no		
229	19.0	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
230	19.0	12	44	no	S	25.0	27.0	(2.0)			13.0	For	Hea	7	8	no	no		
231	16.5	12	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
232	14.5	12	116		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
233	18.0	13	44	no	S	24.5	26.0	(1.5)	5.1	3.2	13.0	For	Hea	7	8	no	si		
234	19.0	12	44	no	S	23.0	26.0	(3.0)			8.0	For	Hea	7	4	no	no		
235	18.0	12	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
236	18.0	12	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
237	17.5	12	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
238	19.0	12	113		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FT	E. OB	E. TE	D. EST	HALF. CARDIACAS	UTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	NA	NI		
239	19.0	12	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
240	18.0	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
241	17.5	12	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
242	18.0	B2	44	no	S	23.5	26.0	(2.5)	3.2		9.0	For	Hea	7	6	no	si		
243	19.0	13	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
244	20.0	B3	96	no	S	30.5	32.0	(1.5)			21.0	For	Hea	7	11	no	no		
245	20.5	13	24	no	S	23.5	27.0	(3.5)			9.0	For	Hea	7	6	no	no		
246	13.5	12	48	no	S	23.0	22.0	1.0			7.0	For	Hea	7	6	no	no		
247	13.5	12	95	no	S	23.5	28.5	(5.0)			8.0	For	Hea	7	6	no	no		
248	15.5	12	47	no	S	23.0	23.5	(0.5)			7.0	For	Hea	7	5	no	no		
249	15.0	12	26	no	S	17.5	19.5	(2.0)			8.0	For	Hea	7	4	no	no		
250	15.5	12	46	no	S	22.5	24.0	(1.5)			9.0	For	Hea	7	4	no	no		
251	16.5	12	46	no	S	23.5	23.5	0.0			9.0	For	Hea	7	4	no	no		
252	17.0	12	45	no	S	23.0	23.0	0.0			10.0	For	Hea	7	4	no	no		
253	17.0	12	47	no	S	22.0	24.0	(2.0)			9.0	For	Hea	7	4	no	no		
254	14.0	12	47	no	S	22.0	23.0	(1.0)			8.0	For	Hea	7	4	no	no		
255	16.0	12	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																	
ORD.	E. IN	IN	T. R	SO	FI	E. OB	E. TE	D. EST	HALF. CARDIACAS	OTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	NA	MI
256	17.0	12	47	no	S	22.0	24.0	(2.0)			9.0	For	Hea	7	7	no	no
257	17.0	12	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
258	19.5	12	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
259	18.5	12	22		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
260	19.0	12	21	no	S	22.0	23.5	(1.5)			7.0	For	Hea	7	6	no	si
261	20.5	12	21	no	S	22.5	23.5	(1.0)			8.0	For	Hea	7	7	no	no
262	20.5	12	21	no	S	23.5	23.5	0.0			8.0	For	Hea	7	5	no	no
263	17.5	12	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
264	18.0	12	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
265	19.5	02	96	si	S	30.5	31.0	(0.5)	4.1		17.0	For	Hea	7	8	no	si
266	21.0	12	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
267	21.0	12	97	no	S	26.5	32.0	(5.5)	2.2		10.0	For	Hea	7	8	no	si
268	21.0	12	97	si	S	30.5	32.0	(1.5)			17.0	For	Hea	7	8	no	no
269	21.0	12	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
270	16.0	04	72	si	S	29.5	26.5	3.0			20.0	For	Hea	7	13	no	no
271	16.0	04	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
272	18.0	12	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. EST	HALF. CARDIACAS	OTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	NA	NI		
273	18.5	14	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
274	17.0	12	80	si	S	30.0	27.5	2.5			18.0	For	Hea	7	11	no	no		
275	17.0	13	96	no	S	27.5	29.5	(2.0)		1.4	15.0	For	Hea	7	17	no	no		
276	17.0	12	94	si	S	30.0	29.5	0.5			18.0	For	Hea	7	11	no	no		
277	17.0	14	66	no	S	22.5	26.5	(4.0)	3.1		11.0	For	Hea	7	10	no	no		
278	16.5	12	64		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
279	16.5	14	66	no	S	22.5	26.0	(3.5)			8.0	For	Hea	7	9	no	no		
280	18.0	14	28	no	S	23.0	23.0	0.0			7.0	For	Hea	10	13	no	no		
281	17.5	12	29	no	S	23.5	23.0	0.5			9.0	For	Hea	7	9	no	no		
282	16.5	12	52	no	S	23.5	24.0	(0.5)			8.0	For	Hea	8	15	no	no		
283	18.5	12	48	si	S	25.0	26.0	(1.0)			12.0	For	Hea	7	8	no	no		
284	18.5	14	49	no	S	24.0	26.0	(2.0)			10.5	For	Hea	7	23	no	no		
285	18.5	12	49	no	S	22.5	26.0	(3.5)			7.0	For	Hea	7	8	no	no		
286	18.0	14	96	si	S	29.5	31.0	(1.5)	2.1/4.1		17.0	For	Hea	7	15	no	si		
287	20.0	14	46	no	S	23.0	26.5	(3.5)			9.0	For	Hea	7	12	no	no		
288	18.0	14	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
289	18.0	14	43		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																	
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	NALF. CARDIACAS	OTRAS NALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	HA	MI
290	18.0	14	43	no	S	23.5	25.5	(2.0)			8.5	For	Hea	7	6	no	no
291	18.0	14	43	no	S	23.0	25.5	(2.5)			6.5	For	Hea	7	4	no	no
292	18.5	14	43		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0	
293	18.0	14	43	no	S	23.0	25.5	(2.5)			7.5	For	Hea	7	3	no	no
294	18.5	14	95	si	S	30.5	31.0	(0.5)	4.1/3.3/6.3		19.0	For	Hea	7	8	no	si
295	19.0	14	42	no	S	23.0	26.0	(3.0)			8.0	For	Hea	7	2	no	no
296	20.0	14	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0	
297	19.0	14	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0	
298	19.5	14	42	no	S	23.0	26.0	(3.0)			6.5	For	Hea	7	4	no	no
299	19.0	14	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0	
300	19.5	12	42	no	S	24.5	26.0	(1.5)	3.2		10.5	For	Hea	7	5	no	si
301	18.0	14	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0	
302	18.5	14	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0	
303	18.5	14	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0	
304	18.5	14	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0	
305	18.0	14	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0	
306	21.0	14	25		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0	

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. EST	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	MA	MI		
307	20.5	14	51	no	S	25.0	27.5	(2.5)			10.5	For	Hea	7	9	no	si		
308	19.0	14	25	no	S	23.0	24.0	(1.0)			8.0	For	Hea	7	3	no	no		
309	20.0	14	25	no	S	23.0	24.0	(1.0)			8.0	For	Hea	7	4	no	no		
310	21.0	14	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
311	19.0	14	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
312	22.0	12	25	no	S	23.5	25.5	(2.0)			7.5	For	Hea	7	4	no	no		
313	21.0	12	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
314	20.0	12	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
315	21.0	14	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
316	22.0	12	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
317	16.5	D3	48	no	S	23.0	23.5	(0.5)		1.4	9.5	For	Hea	7	8	no	si		
318	17.0	D3	96	no	S	29.5	29.5	0.0			15.0	For	Hea	7	7	no	si		
319	17.0	D3	24	si	S	21.0	21.0	0.0		3.2	7.5	For	Hea	7	10	no	no		
320	17.0	D3	24	no	S	21.0	21.0	0.0			7.5	For	Hea	7	12	no	si		
321	17.0	D3	24	si	S	22.0	21.0	1.0			7.5	For	Hea	7	10	no	no		
322	17.0	D3	24	si	S	20.5	21.0	(0.5)			6.0	For	Hea	7	9	no	no		
323	17.0	D3	24	si	S	20.0	21.0	(1.0)			5.5	For	Hea	7	9	no	si		



P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IM	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. EST	NALF. CARDIACAS	OTRAS NALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	NA	NI		
324	17.0	D3	48	si	S	23.0	24.0	(1.0)		3.2	9.5	For	Hea	7	14	no	no		
325	17.0	D3	96	no	S	27.0	29.5	(2.5)	2.1.		11.5	For	Hea	7	8	no	si		
326	17.0	D3	24	no	S	19.5	21.0	(1.5)		1.4	6.5	For	Hea	7	10	no	si		
327	17.5	D3	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
328	17.0	D3	24	no	S	20.0	21.0	(1.0)	3.3		7.0	For	Hea	7	11	no	si		
329	17.0	D3	24	si	S	21.5	21.0	0.5			7.5	For	Hea	7	9	no	no		
330	17.5	D3	48	no	S	23.0	24.0	(1.0)			10.0	For	Hea	7	16	no	no		
331	17.5	D3	24	no	S	20.0	21.0	(1.0)			6.5	For	Hea	7	6	no	no		
332	18.0	D3	48	no	S	24.0	26.0	(2.0)		2.2/3.2	9.5	For	Hea	7	15	no	no		
333	17.0	D3	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
334	18.0	D3	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
335	18.0	D3	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
336	17.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
337	17.0	D3	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
338	17.0	D3	24	si	S	21.0	21.0	0.0		3.2	8.0	For	Hea	7	10	no	no		
339	16.0	D3	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
340	17.0	D3	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E.IN	IN	T.R	SU	FI	E.OB	E.TE	D.ETA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E.C	MP	NA	MI		
341	17.0	D3	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
342	19.5	D3	24	no	S	21.0	23.5	(2.5)			7.0	For	Hea	7	11	no	no		
343	21.0	D3	24	no	S	23.5	24.0	(0.5)			8.0	For	Hea	7	13	no	no		
344	21.0	D3	24	no	S	23.0	24.0	(1.0)			8.0	For	Hea	7	16	no	no		
345	21.0	D3	24	no	S	23.0	24.0	(1.0)			9.0	For	Hea	7	16	no	no		
346	20.0	D3	24	no	S	23.0	23.5	(0.5)		3.2	8.0	For	Hea	8	17	no	no		
347	20.5	D3	24	no	S	22.5	23.5	(1.0)			6.5	For	Hea	7	10	no	no		
348	20.5	D3	24	no	S	22.0	23.5	(1.5)		2.4	7.0	For	Hea	7	11	no	si		
349	20.5	D3	24	no	S	23.0	23.5	(0.5)			7.0	For	Hea	7	19	no	no		
350	19.0	D3	27	no	S	22.0	23.5	(1.5)			7.5	For	Hea	7	13	no	no		
351	21.0	D3	27	no	S	23.0	24.0	(1.0)			8.5	For	Hea	7	14	no	no		
352	21.0	D3	27	no	S	23.0	24.0	(1.0)	3.3	2.4	7.5	For	Hea	7	12	no	si		
353	21.0	D3	25	no	S	22.0	24.0	(2.0)			7.5	For	Hea	7	13	no	no		
354	21.5	D3	24	no	S	22.0	25.0	(3.0)	3.3		8.0	For	Hea	7	11	no	si		
355	21.0	D3	24	no	S	23.0	24.0	(1.0)			7.5	For	Hea	7	14	no	no		
356	21.5	D3	24	no	S	23.5	25.0	(1.5)			8.5	For	Hea	10	17	no	no		
357	20.5	D3	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. EST	HALF. CARDIACAS	OTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	HA MI
358	21.0	D3	24		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
359	19.5	D3	24	no	S	23.0	23.5	(0.5)			7.5	For	Hea	7	13	no no
360	20.0	D3	24	no	S	23.0	23.5	(0.5)		2.4/1.3/3.2	8.5	For	Hea	7	15	no no
361	20.0	D3	24	no	S	23.0	23.5	(0.5)		1.1/3.2	8.0	For	Hea	7	13	no no
362	20.0	D3	24	no	S	23.0	23.5	(0.5)			8.5	For	Hea	7	20	no no
363	24.5	D3	48	no	S	25.5	29.5	(4.0)			11.5	For	Hea	7	22	no no
364	23.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
365	24.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
366	21.0	D3	72	si	S	30.0	29.5	0.5	4.1		17.5	For	Hea	10	8	no si
367	22.0	D3	72	si	S	31.0	30.0	1.0			16.5	For	Hea	7	10	no si
368	22.5	D3	72	si	S	30.5	30.0	0.5			18.0	For	Hea	7	10	no no
369	22.5	D3	72	si	S	31.0	30.0	1.0	4.1		17.0	For	Hea	7	13	no si
370	22.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
371	22.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
372	17.0	D3	24	no	S	20.5	21.0	(0.5)			7.0	For	Hea	7	5	no no
373	18.0	D3	24	no	S	19.0	23.0	(4.0)			7.0	For	Hea	7	13	no no
374	17.0	D3	24	si	S	22.5	21.0	1.5			8.0	For	Hea	7	6	no no

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SI	FI	E. OB	E. TE	D. EST	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	HA	NI		
375	18.5	03	24	no	S	23.0	23.5	(0.5)			8.0	For	Hea	7	9	no	no		
376	17.5	03	24	no	S	20.5	21.0	(0.5)			7.5	For	Hea	7	6	no	no		
377	17.0	02	24	n		0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
378	18.5	03	24	no	S	22.0	23.5	(1.5)			8.5	For	Hea	7	6	no	no		
379	18.0	03	24	no	S	23.0	23.0	0.0			8.0	For	Hea	7	6	no	no		
380	17.5	03	48	no	S	25.0	24.0	1.0			9.5	For	Hea	7	8	no	no		
381	17.0	03	24	no	S	22.0	21.0	1.0			7.5	For	Hea	7	7	no	no		
382	17.5	03	72	si	S	29.0	28.0	1.0	4.1/4.2		15.0	For	Hea	7	8	no	si		
383	17.5	02	24	n		0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
384	18.0	03	24	no	S	22.5	23.0	(0.5)	3.3		8.0	For	Hea	7	9	no	si		
385	18.0	03	72	si	S	29.0	28.5	0.5			17.5	For	Hea	7	10	no	no		
386	17.0	03	72	si	S	28.0	27.5	0.5	2.1		12.0	For	Hea	7	7	no	si		
387	18.0	03	24	n		0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
388	17.5	03	72	n		0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
389	17.0	03	24	si	S	22.0	21.0	1.0			7.5	For	Hea	7	5	no	no		
390	18.0	03	90	si	S	30.5	30.0	0.5	4.1/4.2		15.0	For	Hea	7	8	no	si		
391	17.0	03	72	n		0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. DB	E. TE	D. EST	NALF. CARDIACAS	OTRAS NALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	HA NI
392	18.0	D3	24	si	S	21.0	23.0	(2.0)			7.5	For	Hea	7	5	no
393	18.0	D3	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
394	17.5	D3	90	si	S	30.5	29.5	1.0	4.1/4.2.		16.0	For	Hea	7	9	no
395	17.0	D3	90	si	S	30.0	28.5	1.5	4.1		18.0	For	Hea	7	8	no
396	17.0	D3	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
397	17.5	D3	72	no	S	27.0	28.0	(1.0)			12.0	For	Hea	7	8	no
398	18.5	D3	89	si	S	30.0	30.5	(0.5)	4.1		17.0	For	Hea	7	9	no
399	17.5	D3	90	si	S	30.0	29.5	0.5			17.0	For	Hea	7	10	no
400	18.0	D3	90	si	S	30.0	30.0	0.0			16.0	For	Hea	7	9	no
401	17.0	D3	48	no	S	23.0	24.0	(1.0)			8.0	For	Hea	7	5	no
402	18.0	D3	93	si	S	30.0	30.0	0.0	4.1/6.5.		17.0	For	Hea	7	11	no
403	18.0	D3	47		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
404	17.0	D3	48	no	S	24.0	24.0	0.0			9.0	For	Hea	7	6	no
405	18.0	D3	72	no	S	28.0	28.5	(0.5)	2.1		13.5	For	Hea	7	11	no
406	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
407	17.0	D3	91	si	S	30.0	29.0	1.0	4.2		16.5	For	Hea	7	5	no
408	17.0	D3	48	no	S	25.0	24.0	1.0	1.1/2.1/3.3.		11.5	For	Hea	7	6	no

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	HALF. CARDIACAS	OTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	HP	NA	RI		
409	17.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
410	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
411	18.5	D3	91	si	S	30.0	30.5	(0.5)	4.1		17.0	For	Hea	7	9	no	si		
412	18.0	D3	72	no	S	26.5	28.5	(2.0)			12.5	For	Hea	7	7	no	no		
413	18.0	D3	91	si	S	30.5	30.0	0.5			18.5	For	Hea	7	10	no	no		
414	18.0	D3	91	si	S	30.0	30.0	0.0	4.1/2.4/3.3/4.2		16.0	For	Hea	7	8	no	si		
415	18.0	D3	91	si	S	29.5	30.0	(0.5)			17.0	For	Hea	7	8	no	si		
416	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
417	18.0	D3	91	si	S	30.5	30.0	0.5	4.1/4.2		17.0	For	Hea	7	8	no	si		
418	18.0	D3	91	si	S	29.0	30.0	(1.0)	4.1		15.0	For	Hea	7	8	no	si		
419	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
420	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
421	17.0	D3	72	no	S	24.5	27.5	(3.0)			10.5	For	Hea	7	6	no	no		
422	18.0	D3	114	no	S	28.0	32.5	(4.5)			16.5	For	Hea	7	9	no	no		
423	16.5	D3	72	no	S	26.0	27.0	(1.0)			11.5	For	Hea	7	7	no	no		
424	18.0	D2	114	si	S	31.0	32.5	(1.5)	4.1		19.0	For	Hea	7	14	no	si		
425	18.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	B. EST	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	MA	MI		
426	18.0	B2	72	no	S	25.5	28.5	(3.0)		2.4	11.5	For	Hea	7	7	no	no		
427	17.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
428	18.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
429	18.5	D3	114	si	S	32.0	32.5	(0.5)			21.0	For	Hea	7	11	no	si		
430	17.5	D4	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
431	18.0	D4	72	si	S	28.5	28.5	0.0			13.5	For	Hea	7	7	no	no		
432	18.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
433	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
434	18.0	D4	48	no	S	25.0	26.0	(1.0)			10.0	For	Hea	7	7	no	no		
435	18.0	D4	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
436	19.0	D4	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
437	18.5	D4	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
438	17.0	D2	48	no	S	24.0	24.0	0.0			9.5	For	Hea	7	6	no	no		
439	18.0	D4	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
440	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
441	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
442	18.0	D3	72	no	S	26.0	28.5	(2.5)			12.5	For	Hea	7	11	no	no		

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E.IN	IN	T.R	SU	FI	E.OB	E.TE	D.ETA	HALF. CARDIACAS	OTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E.C	MP	NA	NI		
443	17.0	D3	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
444	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
445	18.0	D4	72	no	S	25.0	28.5	(3.5)			11.0	For	Hen	7	17	no	no		
446	18.0	D4	48	no	S	22.0	26.0	(4.0)			9.0	For	Hen	7	5	no	no		
447	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
448	17.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
449	18.0	D4	72	no	S	26.0	29.5	(2.5)			13.0	For	Hen	7	8	no	no		
450	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
451	17.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
452	18.0	D3	116		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
453	19.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
454	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
455	18.0	D4	144	si	S	35.0	35.0	0.0			23.5	For	Hen	8	18	no	no		
456	18.0	D4	48	no	S	22.0	26.0	(4.0)	3.3		7.5	For	Hen	7	4	no	si		
457	18.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
458	17.0	D3	48	no	S	24.0	24.0	0.0			12.5	For	Hen	7	4	no	no		
459	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			



P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	NA	MI		
460	18.0	D3	144	si	S	35.5	35.5	0.0		3.2	23.0	For	Hes	7	55	no	no		
461	18.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
462	17.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
463	17.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
464	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
465	17.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
466	17.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
467	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
468	17.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
469	18.0	D2	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
470	17.0	D3	64	no	S	25.0	26.0	(1.0)			12.0	For	Hes	7	7	no	no		
471	18.0	D2	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
472	18.0	D2	48	si	S	25.0	26.0	(1.0)			10.0	For	Hes	7	4	no	no		
473	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
474	18.0	B4	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
475	18.0	B4	64	no	S	25.5	27.5	(2.0)			11.0	For	Hes	7	7	no	no		
476	18.0	D3	96	no	S	27.5	30.5	(3.0)			17.0	For	Hes	7	10	no	no		

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	HALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	NA	NI		
477	18.0	D3	144	si	S	35.0	35.0	0.0	4.1/3.4/6.6/7.1.	1.4	27.0	For	Hea	7	21	no	si		
478	17.5	D3	48	n	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
479	18.0	D4	96	n	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
480	17.0	D3	48	n	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
481	17.0	D3	48	n	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
482	14.0	D3	120	si	S	33.0	31.0	2.0		3.2	20.0	For	HEA	8	52	si	si		
483	15.5	D3	120	si	S	33.0	31.0	2.0			19.5	For	Hea	7	12	no	no		
484	16.0	D3	120	si	S	32.0	31.0	1.0			20.0	For	Hea	7	15	no	no		
485	15.5	D3	48	n	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
486	16.0	D3	120	si	S	32.0	31.0	1.0			19.0	For	Hea	7	14	no	no		
487	16.0	D3	72	n	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
488	16.0	D3	120	si	S	32.0	31.0	1.0			21.0	For	Hea	7	17	no	no		
489	17.0	D3	120	si	S	32.0	32.0	0.0	4.1/1.2.		20.0	For	Hea	7	20	no	si		
490	15.5	D3	72	no	S	28.0	27.0	1.0	2.1/2.4.		13.0	For	Hea	7	6	no	si		
491	17.5	D3	120	si	S	32.0	33.0	(1.0)	4.1.		23.0	For	Hea	7	12	no	si		
492	17.5	D3	120	si	S	32.0	32.0	0.0			20.0	For	Hea	7	14	no	si		
493	15.5	D3	120	si	S	32.5	31.0	1.5	4.1/3.3.		18.0	For	Hea	7	11	no	si		

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	HA	MI		
494	17.0	D3	144	si	S	35.5	34.5	1.0			24.0	For	Hea	7	19	no	no		
495	18.0	D3	144	si	S	36.0	35.5	0.5			26.0	For	Hea	7	23	no	no		
496	16.0	D3	144	si	S	36.0	34.5	1.5			21.0	For	Hea	8	16	no	si		
497	17.5	D3	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
498	16.5	D3	48	si	S	25.5	24.0	1.5	3.1/2.1/4.1/7.1.	1.4/2.4.	10.0	For	HEA	7	9	no	si		
499	17.0	D3	144	si	S	36.0	34.5	1.5			23.0	For	Hea	7	20	no	si		
500	18.5	D3	144	si	S	35.5	35.5	0.0	4.1		26.0	For	Hea	7	22	no	si		
501	16.5	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
502	18.0	D3	144	si	S	36.0	35.5	0.5	4.1.		24.0	For	Hea	7	23	no	si		
503	16.5	D3	144	si	S	35.0	34.5	0.5	4.1.		24.0	For	Hea	7	29	no	si		
504	17.0	D3	120	no	S	29.5	31.0	(1.5)	4.1/4.2/6.5.		17.0	For	Hea	7	13	no	si		
505	15.0	D3	91	no	S	27.0	28.5	(1.5)			13.0	For	Hea	7	12	no	no		
506	15.5	D3	72	no	S	21.0	26.0	(5.0)			7.0	For	Hea	7	7	no	no		
507	16.0	D4	144	si	S	34.5	34.5	0.0	4.1/6.1/6.5.		22.0	For	Hea	8	13	no	si		
508	16.0	D2	144	si	S	34.5	34.0	0.5			21.0	For	Hea	7	14	no	no		
509	18.0	D4	144	si	S	34.0	35.0	(1.0)	4.1.		21.5	For	Hea	7	16	no	si		
510	17.0	D4	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	HALF. CARDIACAS	OTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	NA NI
511	17.0	D4	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
512	17.0	D3	144	si	S	33.5	34.0	(0.5)			20.0	For	Hea	7	13	no no
513	16.5	D3	144	si	S	34.0	34.0	0.0	4.1		21.5	For	Hea	7	15	no si
514	17.0	D4	144	si	S	34.5	34.5	0.0	4.1.		22.5	For	Hea	7	13	no si
515	17.0	D3	144	no	S	28.5	34.0	(5.5)			17.0	For	Hea	7	7	no no
516	16.0	D3	144	si	S	34.0	34.5	(0.5)		3.2.	20.5	For	Hea	7	48	si si
517	17.0	D4	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
518	16.5	D4	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
519	16.0	D3	56		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
520	14.5	D3	56		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
521	14.5	D3	56		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
522	14.5	D3	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
523	15.0	D3	56		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
524	15.0	D3	77	no	S	27.0	27.5	(0.5)			14.0	For	Hea	7	12	no no
525	15.5	D4	56		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
526	15.0	D3	118		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
527	15.5	D4	56		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	INT. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. EST	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	NA	MI			
528	15.5	D4	56	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
529	17.0	D2	56	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
530	15.0	D2	55	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
531	17.5	D4	55	no	S	24.0	26.0	(2.0)			13.0	For	Hea	7	5	no	no		
532	15.0	D3	55	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
533	15.5	D3	55	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
534	15.0	D3	55	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
535	15.5	D3	116	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
536	16.5	D4	92	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
537	17.0	D3	92	no	S	26.5	29.0	(2.5)			16.0	For	Hea	7	9	no	no		
538	18.0	D3	49	no	S	24.0	26.0	(2.0)			10.0	For	Hea	7	6	no	no		
539	16.5	D4	49	si	S	23.0	23.5	(0.5)		3.2.	9.5	For	Hea	7	10	no	si		
540	17.5	D4	49	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
541	16.0	D3	48	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
542	16.0	D3	48	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
543	17.5	D2	48	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					
544	17.0	D2	48	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0					

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	NA NI
545	17.0	D4	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
546	17.5	D4	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
547	18.0	D3	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
548	13.0	D1	192	si	S	36.0	36.0	0.0	4.2		25.0	For	Hee	8	25	no si
549	11.5	D1	22		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
550	12.5	D1	192	si	S	35.5	36.0	(0.5)	4.2/4.1.		21.0	For	Hee	8	23	no si
551	12.5	D1	22		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
552	12.5	D1	22		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
553	12.0	D1	92	no	S	25.0	29.0	(4.0)			10.0	For	Hee	7	5	no no
554	13.0	D1	92		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
555	13.0	D1	21		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
556	12.5	D1	70	no	S	21.0	25.0	(4.0)			9.0	For	Hee	7	6	no si
557	14.0	D1	45	no	S	19.0	23.0	(4.0)			8.5	For	Hee	7	4	no no
558	14.0	D1	69		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
559	16.0	I3	168	si	S	35.0	35.0	0.0	4.1		24.0	For	Hee	7	15	no si
560	16.0	I3	50		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0	
561	15.0	B3	72	no	S	23.0	26.0	(3.0)			9.5	For	Hee	7	4	no no

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. EST	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	NP	MA	MI		
562	16.5	D3	49		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
563	14.0	D1	25		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
564	16.5	14	168	no	S	29.5	35.5	(6.0)	2.1.		22.0	For	Hea	9	10	no	no		
565	17.0	14	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
566	14.0	D1	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
567	14.5	D1	47	no	S	21.5	23.5	(2.0)		1.4.	8.0	For	Hea	7	5	no	no		
568	13.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
569	14.0	D1	144	no	S	27.0	34.5	(7.5)			17.0	For	Hea	7	15	no	no		
570	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
571	13.5	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
572	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
573	13.5	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
574	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
575	13.5	D1	72	si	S	26.5	26.0	0.5	2.3.	2.1/3.2.	12.0	For	Hea	7	30	si	si		
576	13.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
577	13.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0				0	0			
578	12.5	D1	72	si	S	26.5	26.0	0.5			11.0	For	Hea	7	6	no	no		

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	INT	T. R	SU	FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	MALF. CARDIACAS	OTRAS MALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	NA	MI		
579	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
580	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
581	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
582	13.0	D1	72		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
583	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
584	14.5	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
585	14.5	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
586	16.0	12	120	si	S	32.0	31.0	1.0		2.3/2.4/3.1	19.0	For	Hee	8	85	si	si		
587	15.5	12	120	si	S	31.5	31.0	0.5			21.0	For	Hee	8	9	no	no		
588	15.0	12	120	si	S	31.5	31.0	0.5			21.0	For	Hee	7	8	no	si		
589	15.5	12	144	si	S	34.0	34.5	(0.5)			26.0	For	Hee	8	13	no	si		
590	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
591	15.5	12	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
592	13.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
593	15.5	12	48	si	S	21.0	23.5	(2.5)	3.3.	1.4/2.4.	7.0	For	Hee	7	7	no	no		
594	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
595	16.0	12	144	si	S	34.0	34.5	(0.5)	4.2.		24.5	For	Hee	8	13	no	si		



P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																			
ORD	E. IN	IN	T. R	SU	FI	E. DB	E. TE	D. ESTA	HALF. CARDIACAS	OTRAS HALF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	WP	HA	NI		
596	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
600	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
601	15.5	12	96	si	5	30.5	29.0	1.5	4.1.		16.0	For	Hem	8	7	no	si		
602	13.5	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
603	15.0	12	96	si	5	30.0	29.0	1.0	4.1.	3.2.	17.0	For	Hem	7	32	si	si		
604	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
608	14.0	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
610	13.5	D1	48		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
611	17.0	D2	27		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
612	18.0	D2	27		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
617	17.0	D3	27		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
618	17.0	12	27		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
621	18.0	13	26		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
623	17.0	D3	120		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
624	19.0	12	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
626	19.5	D3	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				
627	19.0	13	42		n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0				

P R O T O C O L O D E L A S I N T E R V E N C I O N E S																
ORD	E. IN	IN T. R	SU FI	E. OB	E. TE	D. ESTA	MA LF. CARDIACAS	OTRAS MA LF.	LVC	FIJ	TIN	E. C	MP	MA	NI	
629	18.0	12	41	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
631	18.0	12	41	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
634	17.5	03	41	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
636	18.5	12	41	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		
637	17.0	02	41	n	0.0	0.0	0.0			0.0			0	0		

BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON RH, HO SY, BECKER AE:  
The morphology of septal structures in univentricular hearts.  
En: The ventricular septum of the heart. The Hague/Boston/London: Leiden University Press, 1981; págs. 203-24.
- ANDERSON RH, WILKINSON JL, ARNOLD R, LUBKIEWICZ K:  
Morphogenesis of bulboventricular malformations. I: Consideration of embryogenesis in the normal heart.  
Br Heart J, 1974;36:242-55.
- ANDERSON RH, BECKER AE, WILKINSON JL, GERLIS LM:  
Morphogenesis of univentricular hearts.  
Br Heart J, 1976;38:558-72.
- ANDERSON RH, WILKINSON JL, ARNOLD R, BECKER AE, LUBKIEWICZ K:  
Morphogenesis of bulboventricular malformations. II: Observations on malformed hearts.  
Br Heart J, 1974;36:948-70.
- ANDERSON RH, TYNAN M, FREEDOM RM, QUERO-JIMENEZ M, MACARTNEY FJ, SHINEBOURNE EA, WILKINSON JL, BECKER AE:  
Ventricular morphology in the univentricular heart.  
Herz, 1979;4:184-97.
- ANGELINI P, LEACHMAN RD:  
Truncal-septal defects: An anatomic and embryologic discussion of common truncus and related malformations.  
Eur J Cardiol, 1974;2:11-22.
- ANSEMI G, MUÑOZ H, ESPINO VELA J, ARGUELLO C:  
Side by side great arteries.  
Publicación del Instituto Venezolano de Cardiología: Caracas, 1984; págs. 2-21.
- ANSEMI G, MUÑOZ-ARMAS S, DE LA CRUZ MV, DE PISANI F, BLANCO P:  
Diagnosis and classification of single ventricle. Report on seventeen cases with an anatomoe embryologic discussion.  
Am J Cardiol, 1968;21:813-29.

- ARANEGA A, EGEA J, ALVAREZ L, ARTEAGA M:  
Tetralogy of Fallot produced in chick embryos by mechanical interference with cardiogenesis.  
Anat Rec, 1985;213:560-5.
- ARGUELLO C, DE LA CRUZ MV, SANCHEZ GOMEZ C:  
Experimental study of the formation of the heart tube in the chick embryo.  
J Embryol exp Morph, 1975;33:1-11.
- ARTEAGA M, GARCIA-PELAEZ I, FERNANDEZ-ESPINO R:  
Truncus arteriosus y saco aórtico. Arcos aórticos. Morfología normal de las grandes arterias y válvulas sigmoideas.  
Monocardio, 1984;8:60-71.
- ARTEAGA M, DE LA CRUZ MV, SANCHEZ C, DIAZ GF:  
Double outlet right ventricle: Experimental morphogenesis in the chick embryo heart.  
Ped Cardiol, 1982;3:219-27.
- BANKL H:  
Congenital malformations of the heart and great vessels. Synopsis of pathology, embryology and natural history.  
Pathological Anatomy Institute University of Vienna, Austria  
Urban & Schwarzenberg. Baltimore. Munich, 1977.
- BARRY A:  
The functional significance of the cardiac jelly in the tubular heart of the chick embryo.  
Anat Rec, 1948;102:289-98.
- BEAUCHEMIN RR, GARTNER LP, PROVENZA DV:  
Alcohol induced cardiac malformations in the rat.  
Anat Anz Jena, 1984;155:17-28.
- BEHRMAN RE, VAUGHAN VC III:  
The heart.  
En: Nelson Textbook of Pediatrics, 20th ed. Philadelphia:WB Saunders Co. 1983: págs. 1121-3.



- BORN G:  
Die Plattenmodellirmethode.  
Arch F mikr Anat, 1883:584-99.
  
- BORN G:  
Über die Bildung der Klappen, Ostien und Scheidewände im  
Säugetierherzen.  
Anat Anz III Jahrg, 1888;3:606-12.
  
- BORN G:  
Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Säugethierherzens.  
Arch F mikr Anat, 1889;44:284-378.
  
- BREMER JL:  
Experiments on the aortic arches in the chick.  
Anat Rec, 1927/1928;37:225-54.
  
- BREMER JL:  
Part I. An interpretation of the development of the heart.  
Part II. The left aorta of reptiles.  
Am J Anat, 1928;42:307-69.
  
- BREMER JL:  
The influence of the blood stream on the development of the  
heart.  
Anat Rec, 1929;42:6.
  
- BREMER JL:  
Circulatory disturbances in operated chick embryos.  
Reversal of the heart beat.  
Anat Rec, 1931/1932;51:275-84.
  
- BREMER JL:  
The presence and influence of two spiral streams in the  
heart of the chick embryo.  
Am J Anat, 1931/1932;49:409-40.
  
- BRUYERE HJ, FOLTS JD, GILBERT EF:  
Cardiac function changes following epinephrine stimulation  
in chick embryos.  
En: Congenital heart disease:Causes and Processes.New York:  
Futura Publishing Co, 1984: page.279-82.

- . BRUYERE HJ, NISHIKAWA T, UNO H, GILBERT JE, GILBERT EF:  
Pulmonary stenosis with VSD, common aortopulmonary trunk  
and dextroposition of the aorta: morphologic and qualitative  
physiologic effects in caffeine-treated chick embryos.  
Teratology. 1986; 33:119-26.
  
- . BUCHANAN'S MANUAL OF ANATOMY.  
  
St Louis:CV Mosby Co. 1927; pages. 986-1114.
  
- . BURROWS PE, FELLOWS KE, KEANE JF:  
Cineangiography of the perimembranous ventricular septal  
defect with left ventricular right atrial shunt.  
J Am Coll Cardiol. 1983;1:1129-34.
  
- . CAMERON RH, KOLESARI GL, RAJALA GM:  
Elevated blood pressure in the embryonic chick induced by a  
teratogenic dose of dextroamphetamine sulfate.  
Teratology. 1984; 29:87-92.
  
- . CASTRO-GUEZADA A, NADAL-GINARD B, DE LA CRUZ MV:  
Experimental study of the formation of the bulboventricular  
loop in the chick.  
J Embryol exp Morph. 1972;27:623-37.
  
- . CHUAQUI B, BERSCH W:  
The periods of determination of cardiac malformations.  
Virchows Arch Abt A Pathol Anat. 1972; 356:99-110.
  
- . CLARK EB:  
Effect of inflow stream alteration on the morphogenesis of  
the chick heart.  
Anat Rec. 1969;163:170.
  
- . CLARK EB:  
Functional aspects of cardiac development.  
En: Growth of the heart in health and disease. New York:  
Ed Raven Press. 1984; pages. 91-103.
  
- . CLARK EB:  
Hemodynamic control of the chick embryo cardiovascular  
system.  
En: Congenital heart disease: Causes and Processes. New York:



- **CLARK EB:**  
Cardiac embryology. Its relevance to congenital heart disease.  
Am J Dis Child. 1986; 140:41-4.
  
- **CLARK EB, ROSENQUIST GC:**  
Spectrum of cardiovascular anomalies following cardiac loop constriction in the chick embryo.  
En: Birth Defects:Original Article Series. The National Foundation, 1978; Vol XIV, No 7, págs. 431-42.
  
- **CLARK EB, HU N:**  
Developmental hemodynamic changes in the chick embryo from stage 18 to 27.  
Circ Res. 1982;51:810-5.
  
- **CLARK EB, NORMAN HU, ROSENQUIST GC:**  
Effect of conotruncal constriction on aortic-mitral valve continuity in the stage 18, 21 and 24 chick embryo.  
Am J Cardiol. 1984; 53:324-7.
  
- **CLARK EB, HU N, DUMMETT JL, VANDERKIEFT GK, OLSON CH, TOMANEK R:**  
Ventricular function and morphology in chick embryo from stages 18 to 29.  
Am J Physiol. 1986. 19:407-13.
  
- **COLVEE E, HURLE JM:**  
Malformations of the semilunar valves produced in chick embryos by mechanical interference with cardiogenesis.  
Anat Embryol. 1983, 168:59-71.
  
- **CONGDON ED:**  
Transformation of the aortic-arch system during the development of the human embryo.  
Contr Embryol Carneg Inst. 1922;14:47-110.
  
- **CONTE G, GRIECO M:**  
Closure of the interventricular foramen and morphogenesis of the membranous septum and ventricular septal defects in the human heart.  
Anat Anzeiger. 1984; 115:39-55.



- COOPER MH, O'RAHILLY R:  
The human heart at seven postovulatory weeks.  
Acta Anat, 1971;79:280-99.
  
- CRUZ HERNANDEZ M:  
Tratado de Pediatría.  
5ª Edición. Barcelona: Ed. Espaxs, 1983;págs.937-1011.
  
- DANKMEIJER J:  
Cardiac malformations and the stages of their origin during embryonic development.  
Arch Biol (Liège), 1964; 75: Suppl. 1133-56.
  
- DAVIS CL:  
The cardiac jelly of the chick embryo.  
Anat Rec, 1924; 27:201-2.
  
- DAVIS CL:  
Development of the human heart from its first appearance to the stage found in embryos of twenty paired somites.  
Contr Embriol, 1927; 107:245-84.
  
- DE LA CRUZ MV:  
Different concepts of univentricular heart. Experimental embryological approach.  
Herz, 1979;4:67-72.
  
- DE LA CRUZ MV, DA ROCHA PJ:  
An ontogenic theory for the explanation of congenital malformations involving the truncus and conus.  
Am Heart J, 1956;51:782-805.
  
- DE LA CRUZ MV, MILLER BL:  
Double-inlet left ventricle: two pathological specimens with comments on the embryology and on its relation to single ventricle.  
Circulation, 1968;37:249-60.
  
- DE LA CRUZ MV, MUÑOZ-CASTELLANOS L, NADAL-GINARD B:  
Extrinsic factors in the genesis of congenital heart disease.  
Brit Heart J, 1971;33:203-13.

- DE LA CRUZ MV, MUÑOZ-ARMAS S, MUÑOZ-CASTELLANOS L:  
Development of the chick heart.  
Baltimore/London: The John Hopkins University Press, 1972.
- DE LA CRUZ MV, NAVARRO LOPEZ F, PEREIRA GARCIA D, REINHOLD M:  
Las comunicaciones interventriculares en las cardiopatías congénitas.  
Rev Esp Cardiol, 1964;17:691-711.
- DE LA CRUZ MV, GOMEZ CS, ARTEAGA MM, ARGÜELLO C:  
Experimental study of the development of the truncus and the conus in the chick embryo.  
J Anat, 1977;123:661-86.
- DE LA CRUZ MV, GIMENEZ-RIBOTTA M, SARAVALLI O, CAYRE R:  
The contribution of the inferior endocardial cushion of the atrioventricular canal to cardiac septation and to the development of the AV valves study in the chick embryo.  
Am J Anat, 1983; 166:63-72.
- DE LA CRUZ MV, CAMPILLO-SAINZ C, MUÑOZ-ARMAS S, PALLARES G, ZAMUDIO-BANDERA R:  
Congenital heart defects in chick embryos subjected to temperature variations.  
Circ Res, 1966;18:257-62.
- DE VRIES PA:  
Evolution of precardiac and splanchnic mesoderm in relationship to the infundibulum and truncus.  
En: Perspectives in Cardiovascular Research. New York: Raven Press, 1981; págs. 31-48.
- DE VRIES PA, SAUNDERS JB:  
Development of the ventricles and spiral outflow tract in the human heart. A contribution to the development of the human heart from age group IX to age group XV.  
Contrib Embryol, 1962; 256:87-114.
- DOMENECH MATEU JM, REIG VILLALONGA J:  
Defectos de tabicación interventricular y doble salida de ventrículo derecho producidos experimentalmente en embrión de pollo. Análisis causal.  
Rev Esp Cardiol, 1980; 33:147-56.



- DOR X:  
Etude des torsions distales de l'embryon cardiaque. Développement normal et malformations expérimentales réalisées chez l'embryon de poulet.  
Thèse présentée à L'U.E.R. de Nantes. Editions Médicales et Universitaires. Paris. 1976.
- DOR X, CORONE P:  
Experimental creation of univentricular heart in the chick embryo. Nosological deductions.  
Herz, 1979;4:91-6.
- DOR X, CORONE P, CABROL C:  
Création expérimentale de ventricules uniques chez l'embryon de poulet. Etude au microscope électronique à balayage.  
Coeur, 1978; IX:1131-56.
- FITZHARRIS TP, MARKWALD RR, DUNN BRUCE E:  
Effects of  $\beta$ -aminopropionitrile fumurate (BAPN) on early heart development.  
J Mol Cell Cardiol, 1980; 12:553-77.
- FRAZER JE:  
The formation of the pars membranacea septi.  
J Anat & Physiol, 1916;51:19-29.
- FRAZER EJ:  
A manual of Embryology.  
London/ Baillière/ Tindall and Cox. 1931.
- GARCIA-PELAEZ I, DIAZ-GONGORA G, ARTEAGA-MARTINEZ M:  
Contribution of the superior atrioventricular cushion to the left ventricular infundibulum.  
Acta Anat, 1984; 118:224-30.
- GARCIA-PELAEZ I, UCEDA A, ARTEAGA M:  
Cardiogenesis temprana. Formación y torsión del tubo cardíaco.  
Monocardio, 1984; 8:8-18.

- **GARDNER WJ:**  
Overdistention of the neural tube causes congenital heart disease.  
Med Hypothes, 1981; 7:411-20.
  
- **GESSNER IH:**  
Spectrum of congenital cardiac anomalies produced in chick embryos by mechanical interference with cardiogenesis.  
Circ Res, 1966; 28:625-33.
  
- **GESSNER IH:**  
Cardiovascular anomalies resulting from manipulating the truncocoel region of the early chick embryo heart.  
In: Birth Defects:Original Article Series. The National Foundation, 1978; Vol XIV, N2 7, pages. 405-22.
  
- **GESSNER IH, VAN MIEROP LHS:**  
Experimental production of cardiac defects: the spectrum of dextroposition of the aorta.  
Am J Cardiol, 1970; 25:272-8.
  
- **GILANI SH, JAFFEE OC:**  
Congenital cardiovascular anomalies in chick embryos exposed to X-irradiation and hypothermia.  
Am J Obstet Gynecol, 1971; 111:47-52.
  
- **GILANI SH, SILVESTRI A:**  
The effect of propranolol upon chick embryo cardiogenesis.  
Exp Cell Biol, 1977; 45:158-66.
  
- **GILBERT EF, BRUYERE HJ, ISHIKAWA S, FOULKE LM, HEIMANN SR:**  
Role of decreased cardiac output in isoproterenol-induced cardiovascular teratogenesis in chick embryos.  
Teratology, 1980; 21:299-307.
  
- **GIROD DA, RAGHIB G, ADAMS P, ANDERSON RC, WANG Y, EDWARDS JE:**  
Cardiac malformations associated with ventricular septal defect.  
Am J Cardiol, 1966; 17:73-80.

- GONZALEZ AMO R:  
Cardias bifidas en embriones de pollo.  
Tesis Doctoral, 1973.
- GOOR DA, EDWARDS JE:  
The conotruncus. II. Report of a case showing persistent aortic conus and lack of inversion of the truncus (a bulboventricular heart).  
Circulation, 1972; 46:385-9.
- GOOR DA, EDWARDS JE:  
The spectrum of transposition of the great arteries: with specific reference to developmental anatomy of the conus.  
Circulation, 1973; 48:406-15.
- GOOR DA, EDWARDS JE, LILLEHEI CW:  
The development of the interventricular septum of the human heart; correlative morphogenetic study.  
Chest, 1970; 58:453-67.
- GOOR DA, LILLEHEI CW, EDWARDS JE:  
Ventricular septal defects and pulmonic stenosis with and without dextroposition. Anatomic features and embryologic implications.  
Chest, 1971; 60:117-28.
- GOOR DA, DISCHE R, LILLEHEI CW:  
The conotruncus. I. Its normal inversion and conus absorption.  
Circulation, 1972; 46:375-84.
- GOOR DA, LILLEHEI CW, REES R, EDWARDS JE:  
Isolated ventricular septal defect. Developmental basis for various types and presentation of classification.  
Chest, 1970; 58:468-82.
- GRABOWSKI CT, PAAR JA:  
The teratogenic effects of graded doses of hypoxia on the chick embryo.  
Am J Anat, 1958; 103:313-47.

- GRANT RP:  
The embryology of ventricular flow pathways in man.  
Circulation, 1962; 25:756-79.
  
- GRAY SW, SKANDALAKIS JE:  
Anomalías congénitas (embriogénesis, diagnóstico y tratamiento).  
Philadelphia USA: WB Saunders Company, 1975; págs. 751-818.
  
- HAMBURGER V, HAMILTON HL:  
A series of normal stages in the development of the chick embryo.  
J Morphol, 1951; 88:49-92.
  
- HAMILTON HL:  
Lillie's Development of the Chick.  
3rd ed. New York: Holt, Rinehart and Winston Inc, 1952.
  
- HARH JY, PAUL MH:  
Experimental cardiac morphogenesis. I. Development of the ventricular septum in the chick.  
J Embryol exp Morph, 1975; 33:13-28.
  
- HARH JY, PAUL MH, GALLEN WJ, FRIEDBERG DZ, KAPLAN S:  
Experimental production of hypoplastic left heart syndrome in the chick embryo.  
Am J Cardiol, 1976; 31:51-6.
  
- HAY DA, LOW FN:  
The fusion of dorsal and ventral endocardial cushions in the embryonic chick heart.  
Am J Anat, 1972; 133:1-24.
  
- HIS W:  
Beiträge zur Anatomie des menschlichen Herzens.  
F.C.W. Vogel, Leipzig, 1886; 6:251-73.
  
- HOCHSTETTER F:  
Über die pars membranacea septi.  
Wiener Klin Wchnr, Bd 11, S. 247-248. Vortrag gehalten in d Wiss Herztesgesellschaft in, Innsbruck, 1898.

- **HOFFMAN JIE, RUDOLPH AM:**  
The natural history of ventricular septal defects in infancy.  
Am J Cardiol, 1965; 16:634-53.
  
- **HURLE JM:**  
Scanning and light microscope studies of the development of the chick embryo semilunar heart valves.  
Anat Embryol, 1979; 157:69-80.
  
- **HURLE JM, OJEDA JL:**  
Cell death during the development of the truncus and conus of the chick embryo heart.  
J Anat, 1979; 129:427-39.
  
- **HURLE JM, ICARDO JM, OJEDA JL:**  
Compositional and structural heterogeneity of the cardiac jelly of the chick embryo tubular heart: a TEM, SEM and histochemical study.  
J Embryol exp Morph, 1980; 56:211-23.
  
- **ICARDO JM:**  
Distribution of fibronectin during the morphogenesis of the truncus.  
Anat Embryol, 1985; 171:193-200.
  
- **ICARDO JM, MANASEK FJ:**  
An indirect immunofluorescence study of the distribution of fibronectin during the formation of the cushion tissue mesenchyme in the embryonic heart.  
Dev Biol, 1984; 101:336-45.
  
- **JAFFEE OC:**  
Bloodstreams and the formation of the interatrial septum in the Anuran heart.  
Anat Rec, 1963; 147:355-7.
  
- **JAFFEE OC:**  
Hemodynamic factors in the development of the chick embryo heart.  
Anat Rec, 1965; 151:69-75.

- JAFFEE OC:  
Rheological aspects of the development of blood flow patterns in the chick embryo heart.  
Biorheology, 1966; 3:59-62.
- JAFFEE OC:  
The development of the arterial outflow tract in the chick embryo heart.  
Anat Rec, 1967; 158:35-42.
- JAFFEE OC:  
Physiological factors in the genesis of cardiovascular malformations.  
Anat Rec, 1976; 184:572-3.
- JAFFEE OC:  
Hemodynamics and cardiogenesis: The effects of physiologic factors on cardiac development.  
En: Birth Defect: Original Article Series. The National Foundation, 1978; Vol XIV, No 7, pages. 393-404.
- JAFFEE OC:  
Mechanisms and Pathogenesis.  
En: Handbook of Teratology. New York/London: Plenum Press, 1979; pages. 343-63.
- KEITH A:  
The Hunterian Lectures on malformations of the heart.  
Lancet, 1909; 2:359-63, 433-5, 519-23.
- KIRBY ML:  
Neural crest and normal heart development.  
En: Cardiac Morphogenesis. New York/Amsterdam/Oxford: Ed Elsevier, 1985; pages. 181-6.
- KIRBY ML, GALE TF, STEWART DE:  
Neural crest cells contribute to normal aorticopulmonary septation.  
Science, 1983; 220:1059-61.



- KIRBY ML, ARONSTAM RS, BUCCAFUSCO JJ:  
Changes in cholinergic parameters associated with failure of conotruncal septation in embryonic chick hearts after neural crest ablation.  
Circ Res, 1985; 56:392-401.
- KIRBY ML, KIRBY LT, HAYS BM:  
Characterization of conotruncal malformations following ablation of "cardiac" neural crest.  
Anat Rec, 1985; 213:87-93.
- KRAMER TC:  
The partitioning of the truncus and conus and the formation of the membranous portion of the interventricular septum in the human heart.  
Am J Anat, 1942; 71:343-69.
- KUHLMAN RS, KOLESARI GL:  
The spontaneous occurrence of aortic arch and cardiac malformations in the white Leghorn chick embryo (*Gallus domesticus*).  
Teratology, 1984; 30:55-9.
- KUHLMAN RS, KOLESARI GL, KALBFLEISCH JH:  
Reduction of catecholamine-induced cardiovascular malformations in the chick embryo with metoprolol.  
Teratology, 1983; 28:9-14.
- LAANE HM:  
The arterial pole of the embryonic heart. I Nomenclature of the arterial pole of the embryonic heart. II Septation of the arterial pole of the embryonic chick heart.  
Swets & Zeitlinger B.V. Amsterdam and Sijse, 1978.
- LEV M, LIBERTHSON RR, KIRKPATRICK JR, ECKNER FAO, ARCILLA RA:  
Single (primitive) ventricle.  
Circulation, 1969; 39:577-91.
- LIAO PK, EDWARDS WD, JULSRUD PR, PUGA FJ, DANIELSON GK, FELDT RH:  
Pulmonary blood supply in patients with pulmonary atresia and ventricular septal defect.  
JACC, 1985; 5:1343-50.

- **LICATA RH:**  
The human embryonic heart in the ninth week.  
Amer J Anat, 1954; 94:73-125.
  
- **LOS JA:**  
A case of heart septum defect in a human embryo of 27 mmRR length, as a helpful record in studying the components participating in the heart septation.  
Acta Morphol Scand, 1970/1971;8:161-81.
  
- **LOS JA:**  
Analysis of persistent interventricular communication in a human embryo of 19.8 mm CR length.  
Acta Morphol Neerl Scand, 1971/72; 9: 179-206.
  
- **LOS JA:**  
Cardiac septation and development of the aorta, pulmonary trunk and pulmonary veins: previous work in the light of recent observations.  
En: Birth Defects:Original Article Series.The National Foundation, 1978; Vol XIV, N2 7, pages.109-38.
  
- **LOS JA, VAN EIJNDTHOVEN E:**  
The fusion of the endocardial cushions in the heart of the chick embryo.  
Z Anat Entwickl-Gesch, 1973; 141:55-75.
  
- **MALL FP:**  
On the development of the human heart.  
Am J Anat, 1912; 13:249-98.
  
- **MANASEK FJ:**  
Embryonic development of the heart. I A light and electron microscopic study of myocardial development in the early chick embryo.  
J Morphol, 1968; 125:335-66.
  
- **MANASEK FJ:**  
Embryonic development of the heart. II Formation of the epicardium.  
J Embryol Exp Morphol, 1969; 22:333-48.

- **MANASEK FJ:**  
Myocardial cell death in the embryonic chick ventricle.  
J Embryol Exp Morphol, 1969; 21:271-84.
  
- **MANASEK FJ, MONROE GR:**  
Early cardiac morphogenesis is independent of function.  
Dev Biol, 1972; 27:584-9.
  
- **MANASEK FJ, NAKAMURA A:**  
Forces and deformations: their origins and regulation in early development.  
En: Cardiac Morphogenesis. New York/Amsterdam/Oxford: Ed Elsevier, 1985; págs. 126-33.
  
- **MANASEK FJ, KULIKOWSKI RR, NAKAMURA A, NGUYENPHUC Q, LACKTIS JW:**  
Early heart development: A new model of cardiac morphogenesis.  
En: Growth of the heart in health and disease. New York: Raven Press, 1984; págs. 105-30.
  
- **MANNHOFF L, JOHNSON M:**  
The production of cardiovascular anomalies by electrocoagulation in chick embryos.  
Am J Pathol, 1951; 27:751.
  
- **MATSUOKA R, GILBERT EF, YOKOYAMA H, BRUYERE HJ, UNO H:**  
The role of theophylline in cardiovascular teratogenesis in the chick embryo.  
En: Congenital heart disease: Causes and Processes. New York Futura Publishing Co, 1984; págs. 293-311.
  
- **Mc BRIDE RE, MOORE GW, HUTCHINS GM:**  
Development of the outflow tract and closure of the interventricular septum in the normal human heart.  
Am J Anat, 1981; 160:309-31.
  
- **MOORE GW, HUTCHINS GM:**  
Association of interrupted aortic arch with malformations producing reduced blood flow to the fourth aortic arches.  
Am J Cardiol, 1978; 42:467-72.

- **MOULAERT AJ, BRUINS CC, OPPENHEIMER-DEKKER A:**  
Anomalies of the aortic arch and ventricular septal defects.  
Circulation. 1976; 53:1011-5.
  
- **MURILLO FERROL NL:**  
Obtención de macroftalmias tras la interrupción de los vasos vitelinos derechos. Estudio experimental en el embrión de pollo.  
Trabajos de Investigación. Becas de la Facultad de Medicina de Madrid. 1965; págs. 331-41.
  
- **MURILLO FERROL NL, GONZALEZ AMO R:**  
Obtention experimentale de coeurs doubles chez des embryons de poulet. Modifications techniques pour obtenir des stades avancés de développement.  
C R Ass Anat. 1965; 127:1251-7.
  
- **MURRAY HA:**  
The development of the cardiac loop in the rabbit with special reference to the bulboventricular groove and origin of the interventricular septum.  
Am J Anat. 1919; 26:29-39.
  
- **NORA JJ, HART NORA A:**  
The genetic contribution to congenital heart diseases.  
En: Congenital heart disease: Causes and Processes. New York: Futura Publishing Co, 1984; págs. 3-13.
  
- **NORA JJ, HART NORA A:**  
The environmental contribution to congenital heart diseases  
En: Congenital heart disease: Causes and Processes. New York: Futura Publishing Co, 1984; págs. 15-27.
  
- **O'RAHILLY R:**  
The timing and sequence of events in human cardiogenesis.  
Acta Anat. 1971; 79:70-5.
  
- **O'RAHILLY R, BOSSY J, MÜLLER F:**  
Introduction à l'étude des stades embryonnaires chez l'homme.  
Bulletin de l'Association des Anatomistes. 1981. Vol 25; N° 189.

- **ODGERS PNB:**  
The development of the pars membranacea septi in the human heart.  
J Anat, 1938; 72:247-59.
- **OJEDA JL, HURLE JM:**  
Cell death during the formation of tubular heart of the chick embryo.  
J Embryol Exp Morphol, 1975; 33:523-34.
- **OKAMOTO N, SATOW Y, HIDAKA N, AKIMOTO N, MIYABARA S:**  
Morphogenesis of congenital heart anomaly. Bulboventricular malformations.  
Jap Circ J, 1978; 42:1105-20.
- **OPPENHEIMER-DEKKER A:**  
Myocardial architecture of the ventricular septum.  
En: The ventricular septum of the heart. The Hague/Boston/London: Leiden University Press, 1981: pages.1-8.
- **OPPENHEIMER-DEKKER A:**  
Septal architecture in hearts with ventricular septal defect.  
En: The ventricular septum of the heart. The Hague/Boston/London: Leiden University Press, 1981: pages. 47-56.
- **OPPENHEIMER-DEKKER A:**  
Interventricular communications in transposition of the great arteries.  
En: Embryology and Teratology of the heart and the great arteries. The Hague/Boston/London: Leiden U.P., 1981: 139-59.
- **ORTS-LLORCA F, RUANO GIL DR:**  
A causal analysis of the heart curvatures in the chicken embryo.  
Roux Arch Entw Mech, 1967; 158:52-63.
- **ORTS-LLORCA F, JIMENEZ COLLADO J:**  
A radioautographic analysis of the prospective cardiac area in the chick blastoderm by means of labeled grafts.  
Roux Arch Entw Mech, 1969; 160:299-312.

- . ORTS-LLORCA F, JIMENEZ COLLADO J:  
The development of heterologous grafts, labeled with Thymidine 3H in the cardiac area of the chick blastoderm.  
Dev Biol, 1969; 19:213-27.
- . ORTS-LLORCA F, RUANO GIL D:  
Curvature of the heart: its first appearance and determination.  
Acta Anat, 1970; 77:454-68.
- . ORTS-LLORCA F, PUERTA AJ:  
Communication atrium dextrum- ventriculus sinister in the human embryo.  
Third Joint Meeting of the Working Groups of the European Society of Cardiology. Spa, Belgium, 1983. Poster 110.
- . ORTS-LLORCA F, GENIS GALVEZ JM, RUANO GIL D:  
Malformations encéphaliques et microphthalmie gauche après section des vaisseaux vitellins gauches chez l'embryon de poulet.  
Acta Anat, 1959; 38:1-34.
- . ORTS-LLORCA F, JIMENEZ COLLADO J, RUANO GIL D:  
La fase plexiforme del desarrollo cardiaco en el hombre.  
Embriones de 21±1 días.  
An Des, 1960; 8:79-98.
- . ORTS-LLORCA F, LOPEZ RODRIGUEZ A, GARCIA GARCIA J:  
Morfogenesis del tabique interventricular.  
Fonencia al VII Congreso de Sociedad Anatómica Española.  
Cádiz, 1970.
- . ORTS-LLORCA F, PUERTA FONOLLA AJ, SOBRADO PEREZ J:  
The morphogenesis of the ventricular flow pathways in man.  
Arch Anat Hist Embr Norm Exp, 1980; 63:5-16.
- . ORTS-LLORCA F, PUERTA FONOLLA AJ, SOBRADO PEREZ J:  
Morphogenesis of the ventricular flow pathways in man (bulbus cordis and truncus arteriosus).  
En: Perspectives in Cardiovascular Res. New York: Raven Press, 1981; págs. 17-30.

- **ORTS-LLORCA F, PUERTA FONOLLA AJ, SOBRADO PEREZ J:**  
The formation, septation and fate of the truncus arteriosus in man.  
J Anat, 1982; 124:41-56.
- **ORTS-LLORCA F, DOMENECH MATEU JM, PUERTA FONOLLA AJ:**  
Transposición típica completa de las grandes arterias (TGA) en un embrión humano de 19 mm. Una nueva teoría sobre su embriogénesis.  
Rev Esp Cardiol, 1983; 36:81-8.
- **PATTEN BM:**  
The formation of the cardiac loop in the chick.  
Am J Anat, 1922; 30:373-97.
- **PATTEN BM, KRAMER TC:**  
The initiation of contraction in the embryonic chick heart.  
Am J Anat, 1933; 53:349-75.
- **PERNKOPF E, WIRTINGER W:**  
Die Transposition der Herzostien. Ein Versuch der Erklärung dieser Erscheinung. Die Chronologie der Herzentwicklung als morphologische Grundlage der Erklärung.  
Z Anat Entwickl Gesch, 1933; 100:563-711.
- **PEXIEDER T:**  
Blood pressure in the third and fourth aortic arch and morphogenetic influence of laminar blood streams in the development of the vascular system of the chick embryo.  
Fol Morphol, 1969; XVII:273-90.
- **PEXIEDER T:**  
The tissue dynamics of heart morphogenesis. I The phenomena of cell death. A Identification and morphology.  
Z Anat Entwickl Gesch, 1972; 137:270-84.
- **PEXIEDER T:**  
The tissue dynamics of heart morphogenesis. I The phenomena of cell death. B Topography.  
Z Anat Entwickl Gesch, 1972; 138:241-53.

- **PEXIEDER T:**  
Effects de l'hémodynamique sur la morphologie de l'endoca  
de embryonnaire.  
Bull Ass Anat, 1976; 60:399-406.
  
- **PEXIEDER T:**  
Development of the outflow tract of the embryonic heart.  
En: Birth Defects:Original Article Series. The National  
Foundation, 1978; Vol XIV, N2 7,págs. 29-68.
  
- **PEXIEDER T:**  
Changing scene in cardiac embryology.  
Herz, 1979; 4:73-7.
  
- **PEXIEDER T, CHRISTEN Y:**  
Quantitative analysis of shape development in the chick  
embryo heart.  
En: Perspectives in Cardiovascular Research. New York: Ra-  
ven Press, 1981; págs. 49-67.
  
- **PEXIEDER T, CHRISTEN Y, VUILLEMIN M, PATTERSON DF:**  
Comparative morphometric analysis of cardiac organogenesis  
in chick, mouse and dog embryos.  
En: Congenital heart disease:Causes and Processes.New York:  
Futura Publishing Co, 1984;págs.423-38.
  
- **PUERTA FONOLLA AJ:**  
Contribución al estudio del desarrollo del seno venoso y  
estructuras con él relacionadas y su posterior absorción  
por la aurícula.  
Tesis Doctoral. Madrid, 1976.
  
- **RAHIMTOOLA SH, ONGLEY PA, SWAN HJC:**  
The hemodynamics of common (or single) ventricle.  
Circulation, 1966; 34:14-23.
  
- **RAJALA GM, KUHLMANN RS, KOLESARI GL:**  
Blood pressure changes in epinephrine-treated chick  
embryos.  
Teratology, 1984; 25: 69.



- **RAJALA GM, KUHLMANN RS, KOLESARI GL:**  
The role of dysrhythmic heart function during cardiovascular teratogenesis in epinephrine-treated chick embryos.  
Teratology, 1984; 30:385-92.
- **ROHR MS, VAUPEL MR:**  
Cardiac anomalies induced by alteration of venous flow into the developing heart of the chick embryos.  
Teratology, 1975; 11:31.
- **ROMANOFF AL:**  
Chapter VIII: The hematopoietic, vascular and lymphatic systems. Chapter IX: The heart.  
En: The avian embryo. New York: The MacMillan Company, 1960; pags. 614-8 y 681-720.
- **ROSENQUIST GC, DE HAAN RL:**  
Migration of precardiac cells in the chick embryo: A radioautographic study.  
Contrib Embryol, 1966; 38:111-21.
- **RUCKMAN RN:**  
Cardiac morphogenesis: hemodynamic effects.  
En: Cardiac Morphogenesis. New York/Amsterdam/Oxford: Ed Elsevier, 1985; pags. 146-56.
- **RUCKMAN RN, ROSENQUIST GC, RADEMAKER DA, MORSE DE, GETSON PR:**  
The effect of graded hypoxia on the embryonic chick heart.  
Teratology, 1985; 32:463-72.
- **RYCHTER Z:**  
The vascular system of the chick embryo. III On the problem of septation of the heart bulb and trunk in chick embryos.  
Cs Morphol, 1959; 7:1-20.
- **RYCHTER Z:**  
Experimental morphology of the aortic arches and the heart loop in chick embryos.  
Adv Morphol, 1962; 2:333-71.

- **RYCHTER Z:**  
Analysis of relations between aortic arches and aorticopulmonary septation.  
En: Birth Defects:Original Article Series. The National Foundation, 1978; Vol XIV, N2 7, pages. 443-8.
- **RYCHTER Z, LEMEZ L:**  
Tschechisch, engl. Titelübersetzung: The vascular system of the chick embryo. II Introductory communication to the experimental suppression of aortic arches in 4-days chick embryo  
Cs Morfol, 1957; 5:237-54.
- **RYCHTER Z, LEMEZ L:**  
Tschechisch (The vascular system of the chick embryo. V Development and experimental morphology of the proximal interstitial cushion of the heart bulb).  
Cs Morfol, 1960; 8:32-49.
- **RYCHTER Z, LEMEZ L:**  
Development of hereditary ventricular septal defects in Siller's strain of chick embryos.  
En: Birth Defects:Original Article Series. The National Foundation, 1978; Vol XIV, N2 7, pages. 377-86.
- **RYCHTER Z, LEMEZ L, SILLER MC:**  
Tschechisch (The vascular system of the chick embryo. VI Descriptive morphogenesis of hereditary ventricular septal defect in brown Leghorn embryos).  
Cs Morfol, 1960; 8:379-404.
- **RYCHTER Z, RYCHTEROVA V, LEMEZ L:**  
Formation of the heart loop and proliferation structure of its wall as a base for ventricular septation.  
Herz, 1979; 4:86-90.
- **SEIDL W, STEDING G:**  
Contribution to the development of the heart. Part III: The aortic arch complex. Normal development and morphogenesis of congenital malformation.  
Thorac Cardiovasc Surgeon, 1981; 29:359-68.

- **SERVIN M, ARGUELLO C, ARCINIEGAS E, VALENZUELA B:**  
Localización de la fibronectina durante el desarrollo del canal auriculo-ventricular del embrión de pollo mediante técnicas inmunoenzimáticas.  
Bioquímica, 1984; 36:1403-4.
  
- **SISSMAN NJ:**  
Developmental landmarks in cardiac morphogenesis: comparative chronology.  
Am J Cardiol, 1970; 25:141-8.
  
- **SOTO B, BECKER AE, MOULAERT AJ, LIE JT, ANDERSON RH:**  
Classification of ventricular septal defects.  
Br Heart J, 1980; 43:332-43.
  
- **STALSBERG H:**  
The origin of heart asymetry: right and left contributions of the early chick embryo heart.  
Dev Biol, 1969; 19:109-27.
  
- **STEDING G, SEIDL W:**  
Contribution to the development of the heart. Part I: Normal development.  
Thorac Cardiovasc Surgeon, 1980; 28:386-409.
  
- **STEDING G, SEIDL W:**  
Contribution to the development of the heart. Part II: Morphogenesis of congenital heart disease.  
Thorac Cardiovasc Surgeon, 1981; 29:1-16.
  
- **STEDING G, SEIDL W:**  
Cardiac septation in normal development.  
En: Congenital heart disease: causes and Processes. New York: Futura Publishing Co, 1984; págs. 481-99.
  
- **STEDING G, SEIDL W:**  
Pathogenesis of congenital heart disease.  
En: Congenital heart disease: Causes and Processes. New York: Futura Publishing Co, 1984; págs. 501-12.

- **STEPHAN F:**  
Contribution expérimentelle à l'étude du développement du système circulatoire chez l'embryon de poulet.  
Bull Biol Franc Belg, 1952; 86:217-316.
  
- **STEPHAN F:**  
Consequences de la suppression de l'orifice veineux droit d cœur chez l'embryon de poulet.  
Comptes Rendus Des Seances de la Societede Biologie, 1955; 149:1478-9.
  
- **STREETER GL:**  
Developmental horizons in human embryos. Description of age group XI, 13 to 20 somites and age group XII, 21 to 29 somites.  
Contr Embryol Carneg Inst, 1942; 30:211-45.
  
- **STREETER GL:**  
Developmental horizons in human embryos. Description of age group XIII, embryos about 4 or 5 mm long, and age group XIV period of indentation of the lens vesicle.  
Contr Embryol, 1945; 199:27-63.
  
- **STREETER GL:**  
Developmental horizons in human embryos. Description of age groups XV, XVI, XVII and XVIII being the third issue of a survey of the Carnegie Collection.  
Contr Embryol Carneg Inst, 1948; 32:133-203.
  
- **STREETER GL:**  
Developmental horizons in human embryos. Description of age groups XIX, XX, XXI, XXII and XXIII, being the fifth issue of a survey of the Carnegie Collection.  
Contr Embryol Carneg Inst, 1951; 34:165-96.
  
- **TANDLER J:**  
The development of the heart.  
En: Manual of Human Embryology. Philadelphia: JB Lippincott, 1912; pags. 534-70.

- TANDLER J:  
Anatomie des Herzens.  
En: Bardeleben Handbuch der Anatomie des Menschen. Gustav Fischer, Jena, 1913.
- THOMPSON RP, FITZHARRIS TP:  
Morphogenesis of the truncus arteriosus of the chick embryo heart: the formation and migration of mesenchymal tissue.  
Am J Anat, 1979; 154:545-56.
- THOMPSON RP, FITZHARRIS TP:  
Morphogenesis of the truncus arteriosus of the chick embryo heart: tissue reorganization during septation.  
Am J Anat, 1979; 156: 251-64.
- THOMPSON RP, FITZHARRIS TP:  
Division of cardiac outflow.  
En: Cardiac Morphogenesis. New York/Amsterdam/Oxford: Ed Elsevier, 1985; pags. 169-80.
- VAN MIEROP LHS:  
Embryology of the univentricular heart.  
Herz, 1979; 4:78-85.
- VAN MIEROP LHS, ALLEY RD, KAUSEL HW, STRANAHAN A:  
Pathogenesis of transposition complexes: I Embryology of the ventricles and great arteries.  
Am J Cardiol, 1963; 12:216-25.
- VAN PRAAGH R, VAN PRAAGH S:  
Isolated ventricular inversion. A consideration of the morphogenesis, definition and diagnosis of non transposed and transposed great arteries.  
Am J Cardiol, 1966; 17:395-405.
- VAN PRAAGH R, ONGLEY PA, SWAN HJC:  
Anatomic types of single or common ventricle in man.  
Am J Cardiol, 1964; 13:367-86.
- VAN PRAAGH R, PLETT JA, VAN PRAAGH ST:  
Single ventricle.  
Herz, 1979; 4:113-50.

- **VERNALL DG:**  
The human embryonic heart in the seventh week.  
Am J Anat, 1962; 111:17-24.
  
- **WATERSTON D:**  
The development of the heart in man.  
Trans Roy Soc Edinburgh; 1918; 52:257-302.
  
- **WEBSTER DA, GROSS J:**  
Studies on possible mechanisms of programmed cell death in the chick embryo.  
Dev Biol, 1970; 22:157-84.
  
- **WENINK ACG:**  
Some details on the final stages of heart septation in the human embryo.  
Tesis Doctoral. Leiden, 1971.
  
- **WENINK ACG:**  
La formation du septum membranaceum dans le coeur humain.  
Bull Assoc Anat (Nancy), 1974; 58:1127-9.
  
- **WENINK ACG:**  
Considerations pertinent to the embryogenesis of transposition.  
En: Embryology and teratology of the heart and the great arteries. The Hague/Boston/London:Leiden U.P., 1978; p.129-35.
  
- **WENINK ACG:**  
Embryology of the ventricular septum. Separate origin of its components.  
Virchows Arch Pathol Anat, 1981; 390: 71-9.
  
- **WENINK ACG:**  
Development of the ventricular septum.  
En: The ventricular septum of the heart. The Hague/Boston/London:Leiden University Press, 1981; págs. 23-34.
  
- **WENINK ACG:**  
The ventricular septum in hearts with an atrioventricular defect.  
En: The ventricular septum of the heart. The Hague/Boston/London:Leiden University Press, 1981; págs. 35-45.

- . WENINK ACG, GITTENBERGER DE GROOT AC:  
The role of atrioventricular endocardial cushions in the septation of the heart.  
Int J Cardiol, 1985; 8:25-44.
  
- . WENINK ACG, OPPENHEIMER-DEKKER A, MOULAERT AJ:  
Muscular ventricular septal defects: a reappraisal of the anatomy.  
Am J Cardiol, 1979; 43:259-64.
  
- . WISPE J, HU N, CLARK EB:  
Effect of environmental hypothermia on dorsal aortic blood flow in the chick embryo, stages 18 to 24.  
Fed Res, 1983; 17:945-8.
  
- . YOSHIDA H, MANASEK F, ARCILLA RA:  
Intracardiac flow patterns in early embryonic life. A reexamination.  
Circ Res, 1983; 53:363-71.

ADDEMDA

-. RYCHTER Z, LEMEZ L:

The vascular system of the chick embryo. XIII. The influence of some experimental interventions on the development of the size-ratio of the left and right eye till the 8th day of incubation.

Cs Morfol, 1963; 4:328-36

